

Fakulta humanitných a prírodných vied
Prešovskej univerzity v Prešove

Polymorfizmy DNA
u vybraných skupín Rómov

DIZERTAČNÁ PRÁCA

Prešov 2003

PaedDr. Melinda Nagyová

Fakulta humanitných a prírodných vied

Prešovskej univerzity v Prešove

Katedra biológie

**Polymorfizmy DNA
u vybraných skupín Rómov**

**VNTR a STR polymorfizmy
u vybraných skupín Rómov
z východného Slovenska**

Dizertačná práca

Prešov 2003

PaedDr. Melinda Nagyová

Predslov

Táto štúdia vznikla ako výsledok doktorandského štúdia na Fakulte humanitných a prírodných vied Prešovskej univerzity v Prešove v rokoch 1998 až 2003.

Moje úprimné poďakovanie patrí predovšetkým mojim školiteľom – profesorovi RNDr. Ivanovi Bernasovskému, DrSc., vedúcemu katedry a docentke RNDr. Jarmile Bernasovskej, PhD. z Katedry biológie Prešovskej univerzity v Prešove – za odborné vedenie a cenné rady pri spracúvaní tejto práce.

Za zavedenie do problematiky analýzy STR polymorfizmov a sprístupnenia laboratória svojho pracoviska ďakujem Dr. Svetnik P. Horolme, vedúcej DNA-laboratória Súdnosnaleckého ústavu Ministerstva spravodlivosti MR.

Za pomoc pri spracovaní VNTR lokusov ďakujem RNDr. Ľudovítovi Kádasi-mu, CSc. a RNDr. Helene Polákovej z Ústavu molekulárnej fyziológie a genetiky SAV Bratislava; a RNDr. Eve Ferákovej, CSc. z Katedry molekulárnej biológie PríF UK Bratislava.

Moje poďakovanie patrí aj profesorovi Dr. Gyenis Gyula, CSc. vedúcemu Katedry biologickej antropológie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Eötvösa Lorán-da za pomoc pri získavaní odbornej literatúry – za sprístupnenie databáz univerzitnej knižnice.

Touto cestou sa chcem poďakovať aj mojím rodičom za ich preukázané porozumenie a podporu v štúdiách a tiež môjmu bratovi za pomoc s počítačovou technikou.

Dúfam, že privítate textové a obrazové dodatky na okrajoch strán, ktoré slúžia ako doplnky a ilustrácie k textu.

T'aves baxtalo! - T'aves baxtali!
Bud' pozdravený! - Bud' pozdravená!

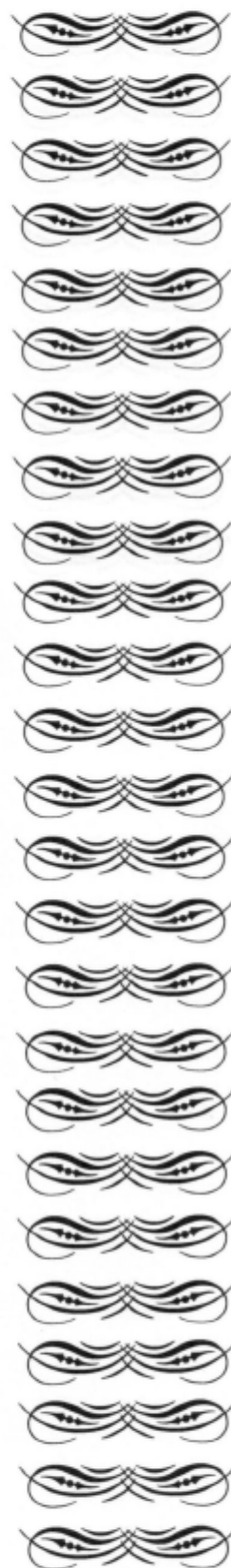
ÚVOD

Existuje množstvo štúdií zaoberajúcich sa rómskou problematikou – otázkami ich pôvodu, etnogenézou a aj práce sociografického charakteru, pretože rómska skupina je nezanedbateľná najmä z dôvodu jej početnosti, ale aj jej exotickosti. Rómovia napriek tomu, že žijú v Európe už celé stáročia, zachovali si svoju identitu, počas dejín odolali všetkým asimilačným snahám a dodnes žijú v relatívne uzavretých izolátoch, ktoré poskytujú jedinečnú možnosť na výskum.

Na realizáciu takýchto antropogenetických výskumov je priam predurčená PCR-metóda zakladajúca sa na polymerázovej reťazovej reakcii, ktorá umožňuje detekciu rozdielov DNA v rámci jedného druhu – teda aj človeka. PCR-metóda nám dovoľuje odhaľovať genetickú variabilitu medzi populáciami a aj v rámci tej istej populácie. Preto táto molekulárno-genetická metóda môže prispieť aj k charakteristike rómskeho etnika žijúceho na východnom Slovensku.

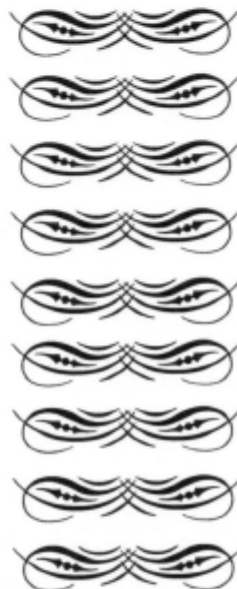
Túto molekulárno-biologickú metódu vhodne dopĺňa metóda genetických vzdialeností, ktorá umožňuje zaradenie študovaných populácií do systému, ktorý môže byť znázornený vo forme stromovej štruktúry. Vetvy geneticky príbuzných populácií sa spájajú, a bod splynutia je číselným vyjadrením genetickej podobnosti sledovaných populácií.

Cieľom mojej dizertačnej práce bolo odhaliť genetickú variabilitu 4 VNTR (variable number of tandem repeats) a 9

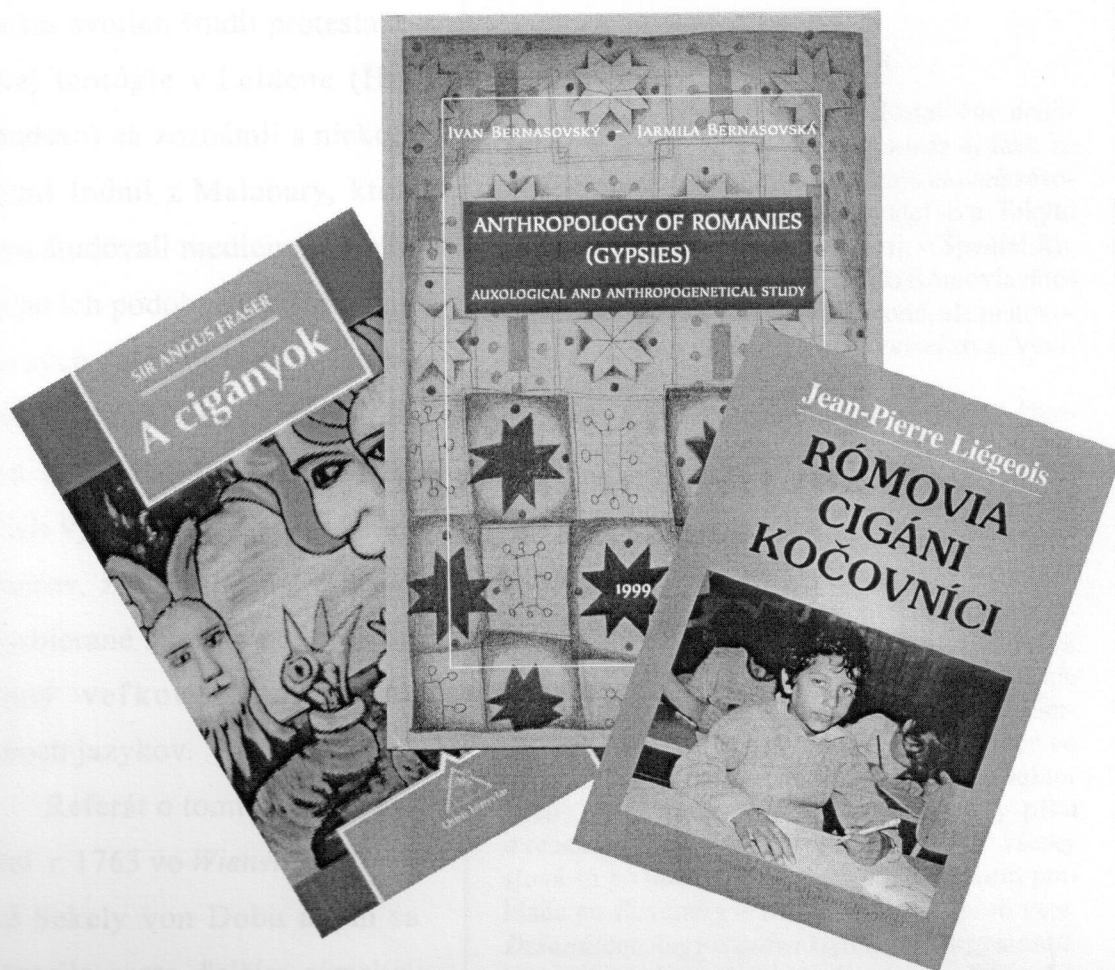


STR (short tandem repeats) lokusov, a to lokusov ApoB, D1S80, D17S5, Col2A1, D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 a D7S820 v populáciách Rómov z východného Slovenska. Porovnaním získaných výsledkov s výsledkami niektorých rómskych a nerómskych populácií Európy, s populáciami severnej Afriky a Indického subkontinentu sme chceli prispieť k objasneniu biologickej histórie a etnogenézy Rómov.

Výsledky zahrnuté v mojej dizertačnej práci okrem populačno-genetického prínosu môžu mať význam aj pre samotných Rómov, nakoľko Rómovia nemajú vlastnú písomnú históriu, ktorá by dokumentovala ich pôvod.



PREHLAD ROMOLOGICKÝCH ŠTÚDIÍ



„Gádžové jsou zvláštní lidi. Když se chtějí dovědět něco o Romech, jdou za 'gadžovským odborníkem na cikánskou otázku', aby jim dal rozumy“ (Aurel Stoica, 1997)

ROMOLOGICKÉ ŠTÚDIE

JAZYKOVEDNÉ ŠTÚDIE

Vedecký záujem o Rómoch vznikol až v 18. storočí, a väčšina romologických štúdií v spojitosti s tým uvádza príbeh o teológovi Vályiovi takto:

Tento mladý muž od Komárna počas svojich štúdií protestantskej teológie v Leidene (Holandsko) sa zoznámil s niekoľkými Indmi z Malabary, ktorí tam študovali medicínu. Zaujala ho ich podobnosť s Rómami, ktorých dobre poznal zo svojho rodiska. Zapísal si viac než tisíc sinhalezských slov spolu s ich významom. Keď sa vrátil domov, začal u Rómov skúšať zozbierané slová, a bol prekvapený veľkou podobnosťou oboch jazykov.

Referát o tomto objave vyšiel r. 1763 vo *Wiener Anzeigen* od Sekely von Dobu a tým sa otvorila cesta ďalším rómsko-indským lingvistickým a historickým výskumom.

Valyiho objav

Obr. č. 2.:

Rómsky jazyk

To, že lingvistické štúdie dostatočne nedokazujú indický pôvod Rómov dokladá aj fakt, že Rómovia veľmi flexibilne preberajú slovnú zásobu (nie jazyk!) väčšinového obyvateľstva. Takýto proces prebehol vo Veľkej Británii, v Španielsku, v Arménsku, a aj v Tadžicku. Títo Rómovia dnes nepoužívajú slová rómskeho pôvodu, ale nehovoria ani jazykom väčšinového obyvateľstva. Vyvinuli si svojský jazyk.

Takýto proces v jazykovede sa nazýva *kreolizáciou* jazyka (Szegő, 1983).

Presne ten istý proces je badateľný aj v jazyku skupiny Rómov *Romunguro* žijúcich na území Maďarska (Szegő, 1983). Táto skupina – ktorú pôvodne tvorili predovšetkým hudobníci, v dôsledku intenzívnych kontaktov (pred 150-timi rokmi) s väčšinovou populáciou sa ich jazyk zmenil. Niežeby sa vzdali vlastného jazyka, ale používajú maďarské slová so zachovaním rómskych koncoviek a gramatiky viet. Ako napr vo vete: *Kezdil o doktori te iril o recepto*. (Doktor začne písať recept - Začil o doktori ty píšil o recepto.) Táto veta - napriek tomu, že všetky slová sú po maďarsky, - resp. v zrkadlovom preklade po slovensky – je po rómsky. (Oproti vete: *Dzsanáloom, hogy a csávó komálja az ergya csajt*. Viem, že chalan má rád zlú dievčinu. – *Džanalujem, že čávo komáluje erďa čaju*.)

Obr. č. 3.: (Fraser, A. 1996)

Vályiho sporný objav

Je síce pravda, že článok publikovaný v 18. storočí vo Wiener Anzeigen je dôležitým medzníkom vo romologických štúdiách, ale tam uvedené tvrdenia pochádzajúce z tretej ruky pravdepodobne každým podaním nadobudli na význame.

Podľa výskumov profesora Hancocka na leidskej univerzite v r. 1750 boli zapísaní traja ceylonskí študenti, ale Vályi študoval na utrechtskej univerzite - čo samozrejme neznamená a nezpochybňuje ich stretnutie. Tí traja študenti z Ceylonu boli však synovia holandských rodičov (Srí Lanka v tých časoch patrila Nizozemsku), ktorí sa na ostrove narodili a vyrástali. Tento fakt vo veľkej miere znižuje pravdepodobnosť ich spomínanej podobnosti s Rómami. Hoci Vályiho zbierka slov bola dostatočne rozsiahla nie je pravdepodobné, že komárňanskí Rómovia - hociako starostlivo si zachovali svoj pôvodný jazyk - tak ľahko pochopili význam sinhalezských slov, ako to evokuje spomínaný článok.

Napriek nepresnostiam však článok Sekely von Dobu vďaka nápadu Štefana Vályiho podnietil ďalší výskum zaoberajúci sa možnosťou indického pôvodu Rómov, za čo si zaslužia uznanie.

Pružinou vedeckého záujmu bola zvedavosť, ktorá vznikala v spojitosti s národným obrozením strednej a východoeurópskych národov v súvislosti s objasnením pôvodu rôznych jazykov a národov. Druhým dôvodom zvýšeného záujmu bola skutočnosť, že vládnuca moc v 18. storočí len ťažko tolerovala poddaných ktorí neplatili dane, nevykonávali robotu a nedali sa ani evidovať.

Desať rokov po prvej správe v 1783. roku H. M. Grellmann vydal rozsiahlu publikáciu s názvom *Die Zigeuner* (Cigáni). O všeobecnom záujme svedčí aj to, že trošku neskôr, r. 1798 vyšla aj ďalšia kniha: György Enessei *A' tzigán nemzetnek igazi eredete, nyelve, története* (Ozajstný pôvod, jazyk a príbehy cigánskeho národa).

Za zakladateľa romológie v dnešnom slova zmysle sa však považuje nemecký vedec August Friedrich Pott. Jeho

dvojzväzkové dielo *Die Zigeuner in Europa und Asien* (Cigáni v Európe a v Ázii) (1845) sa dodnes považuje za základné dielo, a je nenahraditeľné, o čom svedčí aj to, že 120 rokov po prvom vydaní, ho vydali znova.

Dôkazom indického pôvodu Rómov sa zaoberali okrem Potta aj ďalší, ako Grellmann (1787), Miklosich (1874), Paspati (1870), ktorí odvodzovali jazyk Rómov priamo zo sanskritu a určili jeho pôvod zo severovýchodnej Indie. No aj napriek týmto svedectvám bola predstava o egyptskom pôvode Rómov medzi obyvateľstvom naďalej a ešte dlho všeobecne rozšírená - až do druhej polovice 19. storočia.

V posledných desaťročiach 19. storočia arcivojvoda Jozef sa intenzívne zaujímal o rómsku problematiku. O jeho snahe o riešenie konfliktov a zlepšenie komunikácie svedčia aj jeho diela: Maďarsko – cigánsky základný slovník – *Románé álává* - ktorú zostavil Nagy-Idai Sztojka Ferenc (1886), a Cigánska gramatika – *Románo čibákero siklaribe* s obsiahlou bibliografiou dobovej odbornej literatúry s rómskou tema-

Obr. č. 4.:

Skupiny Rómov

Atchefalaya: zmiešané Afro-Rómské spoločenstvo v Louisiane, potomkovia deportovaných zo Španielska
Austrijaki: južné Poľsko
Banjara: India, jazyk Banjari, Lamani
Bijeli: Srbsko, moslimskí Rómovia
Calč, Calo: Španielsko a Južná Amerika
Ciganos: Portugalsko a Južná Amerika
Dom, Domari: Sýria a Perzia
Domba, Dom, Dum: India
Gitanos: južné Francúzsko a Južná Amerika
Helebi: Egypt, Severná Afrika
Jčniches: Francúzsko a Belgicko
Karači: Malá Ázia, Zakaukazsko, Perzia
Kurbat: severná Sýria, Perzia
Lom, Boša, Lomari: Arménsko, Turecko, južný Kaukaz
Lovbey: Senegal a Gambia, potomkovia deportovaných zo Španielska a Francúzska
Luri, Luli, Zott: Sýria, Palestína, Egypt
Manouches: Francúzsko
Masiotike-sinte: Prusko
Navar, Nuri: Ben, Palestína a Sýria
Omstreifere: „Tatári“ - potomkovia Rómov, Nemcov a domácich Nórov
Paibano: Slovensko, Poľsko, Maďarsko
Piemontesi a Lombardi: Sinti v severnom Taliansku
Quinquis, Quinquilleros: Španielsko a Portugalsko
Redlegs: takzvané „chudobné biele“ spoločenstvo z Barbadosu
Reizigers: „woonwagbewooners“, Nizozemsko
Resande: Švédsko, potomkovia Rómov a Švédov
Romnichals a Romanichals: Veľká Británia, USA
Romungre: maďarskí Rómovia, pôvodne hudobníci, nerozprávajú po rómsky
Sinti: Nemecko
Tartari: Švédsko
Valašskí Rómovia:
Aurari „ryžovači zlata“
Kalderaši alebo Kelderari „kováči“
Lingurari „výrobcovia lyžíc“
Lovari, Lovara, Lalleri „koniari“
Ludar, Rudari „baníci“
Netotsi „hroziví“, unikli z otroctva do Karpát
Ursari „krotitelia medveďov“
Xoraxanč Romř: Turecko, väčšinou mohamedáni

tikou, ktorú napísal Ponori Thewrewk Emil (Habsburg, 1888).

V 20. storočí sa z jazykovedného hľadiska venovali Rómom vo Francúzsku Fraser a Liégeois, a aj americký Róm Hancock. Jan Kochanowski z Poľska – svojím rómskym menom Vania de Gila – sa zaoberal štúdiom indického pôvodu Rómov a smermi ich sťahovania sa. Ďalší známi vedec venujúci sa Rómom v Poľsku je Ficowski. Angličan Thomas Acton od polovice minulého storočia spracoval dejiny nariadení v spojitosti s Rómami v Anglicku, a zaoberal sa aj vývojom etnického uvedomenia anglických Rómov, a dnešnými požiadavkami tejto skupiny, ako napr. aby štát zabezpečil právo sťahovať sa, t.j. aby zabezpečili v obciach “parkoviská” s tečúcou vodou, elektrickým prúdom, lekárskou starostlivosťou, a aby zriadili “putovné školy” s vyučovaním v materinskom jazyku.

Rómsky jazyk na Slovensku bol kodifikovaný v roku 1971, keď jazyková komisia pri vtedy existujúcom Zväze Cigánov – Rómov na Slovensku (1969 – 1973) prijala záväznú písomnú normu slovenského dialektu rómčiny. Príručku rómčiny vydal už v roku 1963 Jiří Lípa: *Príručka cikánštiny* (Státní pedagogické nakladatelství, Praha); slovníky: *Rómčina do vrečka* (slovník) vydala Anna Koptová v roku 1995 (Pezolt, Košice), a *Slovensko - rómsky / Rómsko - slovenský slovník* vydali Ján Berky, Jozef Prokop st. a Michal Stojka v roku 1996 (Štúdio dd, Bratislava).

Vo veľkom počte sú dostupné aj iné jazykové knihy a slovníky Choly Daróciho (1988), Ervina Karsaiho (1982, 1996) a Romano-Racza (1994). V Maďarsku aj mnohé jazykové školy popri bežných svetových jazykoch vyučujú rómsky jazyk lovári, ako napr. jazyková škola Budapest Nyelvstudió v Budapešti.

Výskum v 20. storočí

Rómsky jazyk na Slovensku

Rómsky jazyk v Maďarsku

ANTROPOLOGICKÝ VÝSKUM RÓMOV V ČECHÁCH A NA SLOVENSKU

Intenzita vedeckého záujmu o výskum charakteristík rómskej populácie v Čechách a na Slovensku sa zvýšila v období po 1. svetovej vojne. Pozoruhodné sú práce Štampacha, Malého, Váňu a Pinkasa a Novákovej.

Základy k poznaniu Rómov na Slovensku položil Valšík, ktorý jednak sám študoval ich pigmentáciu a akulturáciu, ale predovšetkým podnietil záujem o túto problematiku u svojich žiakov, ktorí rozvinuli nielen somatický a dermatologický výskum slovenských Rómov, ale tiež výskum serologický a populačno-genetický (Ferák, Kroupová, Siváková, Vilímková, Galiková, a iní.).

Ďalším uznávaným vedcom venujúcim sa tejto problematike v Prahe bol prof. Suchý (1964, 1968, 1972), ktorý s Malou porovnávali skupiny rómskych detí žijúcich v detských domovoch a v rodinnom prostredí.

Telesný rast a vývin moravských detí sledovali Dokládala a Hamplová.

Antropologickým štúdiom rómskych novorodencov sa zaoberali v Čechách Zeman, Malá, Hamplová a na Slovensku Bernasovská K., a Bernasovský. Na východnom Slovensku profesor Bernasovský zahájil po roku 1970 široko koncipovaný výskum rómskych detí z východného Slovenska. Vedľa klasických antropometrických, pigmentačných a serologických znakov do nej začlenil so svojím pracovným tímom aj problematiku niektorých biologických ukazovateľov pohlavného dospievania, kostného veku a hladín hormónov. Bernasovský a kol. porovnávali údaje u donosených rómskych novorodencov v porovnaní s nerómskymi novorodencami

Valšík

Suchý

Dokládala

Bernasovský

a poukázali na signifikantne nižšie hodnoty sledovaných antropometrických parametrov u rómskych novorodencov. Zistené rozdiely v pôrodných hmotnostiach potvrdzujú správnosť používania nižšieho limitu nízkej pôrodnej hmotnosti pre rómskych donosených novorodencov (2250 g), ktorý sa javí biologicky správnym.

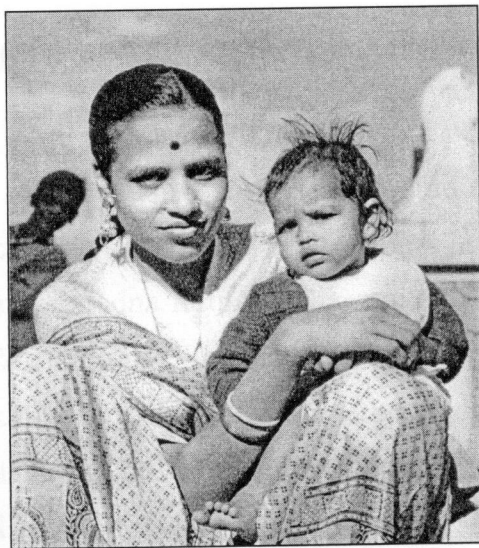
Sledovaním základných antropometrických charakteristík rómskych novorodencov určili Bernasovský a kol. (1976a, 1979) vzťah veku rómskych matiek k pôrodnej hmotnosti novorodencov. Zistili, že so zvyšujúcim sa vekom matky dochádza k zvyšovaniu hmotnosti novorodenca.

Obr. č. 5.:

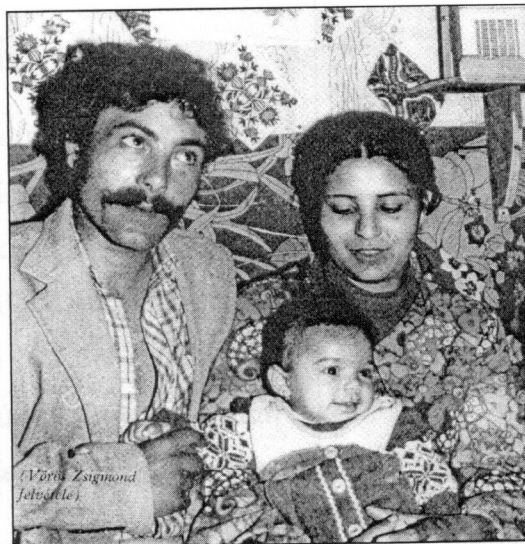
Typológia Rómov

Podľa klasického antropologického chápania Rómovia patria k bielemu plemenu, ktoré sa označuje tiež ako eurázijské alebo indoeurópske.

Prevažuje u nich tmavá pigmentácia očnej dúhovky, vlasov a žltohnedá farba pokožky. V typologickom zložení Rómov sú pre nich zvlášť charakteristické indo - afgánske prímiesy, popri mediteranoidných, orientálnych, sublapoidných, veddoidných a iných prvkoch (Suchý, 1972a, Kisely, 1979).



Matka s dieťaťom zo západnej Indie
(Zikmund a Hanzelka 1971)



Rómska rodina zo strednej Európy
(Diósi 1988)

Beneš okrem telesných znakov slovenských Rómov sa zaoberal aj dermatoglyfickými osobitosťami tejto skupiny. Podobne tejto problematike sa venuje na východnom Slovensku Mačurová (2001, 2002).

Zaujímavé je aj zistenie etnických rozdielov Hudákovvej a Bernasovského v hladinách skúmaných gonadotropných hormónov, ktoré boli u rómskych detí vyššie, ako u nerómskych.

Porovnaním hladín imunoglobulínov rómskych a nerómskych detí sa u rómskych zistili výrazne vyššie hladiny IgG a nižšie hladiny IgM, čo je možné podľa Bernasovského dať do súvislosti so zvýšeným výskytom infekčných a parazitických chorôb a so zníženou sociálno-hygienickou úrovňou Rómov.

ANTROPOGENETICKÉ ŠTÚDIE RÓMOV

Ani v súčasnosti nie je otázka pôvodu Rómov uspokojivo zodpovedaná. Lingvistické štúdie síce poukázali na indický pôvod Rómov, avšak medzi jazykom a etnikom neexistuje žiadna nutná väzba, pretože etnická skupina časom môže zmeniť svoj jazyk. Doposiaľ sú len dohady o tom, z ktorej časti Indie Rómovia pochádzajú, ku ktorým kastám patrili, aký bol ich sociálny status na pôde Indie a prečo opustili Indiu.

Predpokladá sa, že súčasná rôznorodosť rómskeho etnika odráža aspoň čiastočne stav pred opustením pôvodnej pra-

Obr. č. 6.:

Etnicita Rómov

V dnešnej dobe – pre takúto skupinu ako sú aj Rómovia – sa odporúča používať pojem "etnická skupina" – toto pomenovanie používa aj OSN pre spoločenstvá ktoré nedosahujú národnostnú vývojovú úroveň, ale nestotožňujú sa ani s väčšinovým národom.

Aj podľa J. V. Bromleja (1976) etnikom možno nazvať skupinu ktorá má samostatný jazyk, osobitnú kultúru, psychické osobitosti. Etnikum sa vyznačuje uvedomenosťou (my – oni antitéza), spoločným pôvodom t.j. presvedčením o spoločnom pôvode a uznaním týchto rozdielov ostatnými, sústavou zvykov líšiacimi od zvykov ostatných, osobitným spôsobom života, endogamiou (sobášenie v rámci skupiny), charakteristickými telesnými znakmi a stálosťou týchto odlišujúcich znakov, atď. Rómovia tieto kritériá spĺňajú.

Sú lingvistické štúdie postačujúcim dôkazom?

vlasti, ktorý sa naďalej udržiaval vďaka endogamii v jednotlivých skupinách. Heterogenita genofondu Rómov tiež môže byť spôsobená mechanizmami uplatňujúcimi sa v reprodukčne uzavretých kolektívoch (izolátoch), tj. genetickým driftom a efektom zakladateľa (Bernasovský a Bernasovská, 1999).

Rómovia sa vyznačujú zvýšenou frekvenciou alely AB0*B, čo súhlasí so zvýšeným výskytom tejto krvnej skupiny v Indii. Skupinovými vlastnosťami krvných skupín u Rómov na území Československa sa zaoberali okrem Bernasovského aj práce Gálikovej a kol. (1969) a Beneša (1974). Frekvencie krvných a sérových skupín uvádza Bernasovský (1994) aj v monografii "*Seroanthropology of Roms (Gypsies)*".

Pozorovania u Rómov poukazujú na to, že génový pool rómskej populácie sa líši od génového poolu majoritnej populácie: Bernasovská a kol. (1998a), Bernasovský a kol. (1994), Biroš a kol. (1995) a Juríčková a kol. (1993a, 1993b, 1993c, 1994) uskutočnili porovnávacie štúdie okrem AB0-systému aj ohľadom krvných skupín Rh, MN, P, Lutheran, Kell, Duffy, Kidd a ďalších biochemických parametrov (sérových skupín Gc, Hp, Inv, izoenzýmov ACP, ADA, EsD, PGM, a HLA systému) Rómov a nerómskeho obyvateľstva východného Slovenska.

Objasneniu niektorých dedičných ochorení vyskytujúcich sa vo vysokých frekvenciách v izolovaných etnických skupinách Rómov sa úspešne venuje skupina vedcov na Katedre molekulárnej biológie Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave a na Ústave molekulárnej fyziológie a genetiky Slovenskej akadémie vied v Bratislave, kde r. 1999 potvrdili, že glaukóm (PCG) je spôsobený mutáciou génu cytochrómu

**Štúdium
krvných skupín**

**Štúdium
biochemických
parametrov**

**Štúdium VNTR
polymorfizmov**

Obr. č. 7.:

Vyhlásenie Americkej antropologickej spoločnosti

“Staré chápanie rasy pretrváva dodnes ako spoločenská konvencia, ktorá podporuje inštitucionalizovanú diskrimináciu. Prejavy rasových predsudkov spôsobujú zlé zaobchádzanie s ľuďmi a vedú tak k psychologickému stresu a spoločenským škodám. Preto vedci sa musia snažiť chrániť výsledky svojich výskumov pred zneužitím pre rasistické účely.” – píše vedci, ktorí sa zaoberajú štúdiom evolúcie a variability človeka v preambuli vyhlásenia (American Association of Anthropology, 1996); a preto predkladám aj ja výťah ich stanoviska vo svojej práci:

- ◆ Na každom kontinente sú rôzne populácie, ktoré sa líšia jazykom, ekonomikou a kultúrou. Neexistuje však nijaká národná, náboženská, lingvistická či kultúrna skupina alebo ekonomická trieda, ktorá by predstavovala rasu.
- ◆ Všetci v súčasnosti žijúci ľudia patria k jednému druhu *Homo sapiens* a majú spoločného predka. Biologická variabilita medzi populáciami sa týka len malého variačného rozpätia frekvencií spoločných znakov. Ľudské populácie sa nevzdialili od seba geneticky natoľko, aby sa zabránilo kríženiu medzi príslušníkmi rôznych populácií.
- ◆ Všade tam, kde dochádzalo ku kontaktu medzi odlišnými populáciami, vždy dochádzalo aj ku kríženiu medzi nimi. Prekážky, ktoré sa stavali voči takýmto interakciám boli spoločenského či kultúrneho rázu, nikdy však neboli biologické. Po mnoho tisícročí v každej oblasti bol ľudský pokrok založený na kultúrnom a nie na genetickom zdokonalení.
- ◆ Nie je známe, že by ľudské vlastnosti, ktoré majú univerzálnu biologickú hodnotu pre prežitie druhu, sa vyskytovali častejšie v jednej populácii ako v niektorej inej. Preto je z biologického hľadiska nezmyslom prisudzovať niektorej rase nadradenosť alebo podradenosť oproti ostatným.
- ◆ Globálny proces urbanizácie spojený s interkontinentálnymi migráciami, povedie k zmenšovaniu rozdielov medzi všetkými populáciami.

P4501B1 (CYT1B1) na krátkom ramene 2. chromozómu. (Plášilová a kol. 1999). Antropogenetickým štúdiám (enzýmovým polymorfizmom sa venujú aj Siváková (1983, 1994); a štúdiu VNTR polymorfizmov (ApoB, D1S80) Rómov na východnom Slovensku sa venovali: Bernasovská a kol. (1998a, 1998b, 1999a, 1999b).

**Objav génu
glaukómu**

Kolektív na Ústave súdneho lekárstva Maďarskej akadémie vied v Budapešti sa zaoberá zisťovaním súvislostí v rámci STR systémov – na základe štúdií uskutočnených na STR lokusoch HumLPL, HumF13B, HumFES a HumF13A01 zistili výrazné rozdiely výskytu frekvencií alel u maďarských Rómov zo župy Baranya a ostatnou nerómskou populáciou strednej Európy (Füredi a kol. 1998). Štúdiu ďalších STR polymorfizmov u Rómov sa venovali aj Egyed a kol. (2000), a Woller a kol. (1998).

Štúdium STR systémov

KTO SÚ RÓMOVIA ? (HISTÓRIA RÓMOV)



Rómovia (Bernasovský a Bernsovská 1999)

*Kon mangel te kerel tumendar roburen či šoxa
phenela tumen o čaćimos pa tumare.*

(Ten, kto vás chce zotročiť nikdy vám nepovie pravdu o vašich predkoch.)

INDICKÁ SPOLOČNOSŤ V OBDOBÍ MASOVÉHO ODCHODU RÓMOV

Predpoklad, že pôvod Rómov je potrebné hľadať v Indii, potvrdzujú aj podobnosti niektorých zvykov, podobná spoločenská štruktúra a výber povolání. Ale o tom, že presne do akej vrstvy (kasty) patrili Rómovia v Indii, dodnes sa historici len dohadujú.

Indickú spoločnosť v období ich odchodu rozdeľovala prísna hierarchia štyroch stavov (*varna*) a veľa kást (*džatis*). Táto hierarchia sa sformovala približne na prelome 2. a 1. tisícročia pred n.l. Čím vyšší bol štatút varny, o to svetlejšiu pokožku mali jej predstavitelia. Najvyšším stavom boli kňazi *bráhmani* (*brahmana*), ktorí zastávali vysoké politicko-vedúce funkcie, nasledovali vládcovia a bojovníci *kšátriovia* (*ksatria*, *rajanía*). Pod nimi boli remeselníci, roľníci a obchodníci *vajšiovia* (*vaisia*), ďalej nasledovali sluhovia *šúdrovia* (*sudra*), ktorí vykonávali pomocné práce pre prvé tri triedy. Každý z týchto stavov mal ešte mnohonásobné delenie na kasty a podkasty. Mimo týchto stavov stáli *nedotknuteľní* (*haridžan*, alebo európskym označením *pariah*), príslušníci tzv. nečistých povolání, ako napr. zametači, rybári, kati, polonomádni a nomádni kováči, tanečníci a tiež profesionálni zlodeji špecializovaní hlavne na dobytok a iní, ktorí zotrvali pri nomádnom alebo polonomádnom spôsobe života, a tiež príslušníci kmeňov, ktoré neboli zaradené do kastovného systému.

Kastovný systém

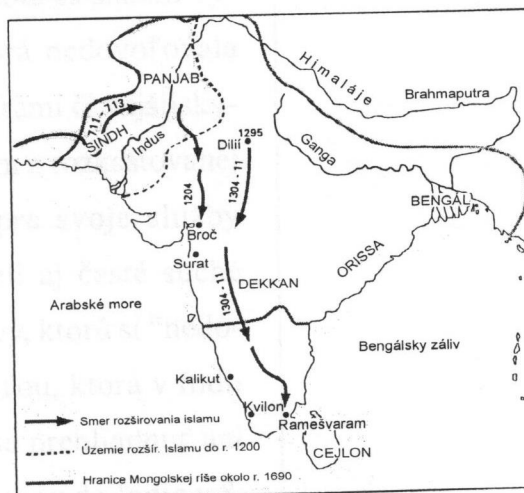
Kastovný systém charakterizovala prísna endogamia. Spolu stravovať sa mohli len jednotlivci patriaci do jedného stavu, a každý mohol vykonávať len remeslo svojej kasty. Síce jedinec bol úzko spätý so svojou kastou, ale v rámci kastovného systému bola badateľná istá mobilita: vznikom nových profesií mohli vzniknúť aj nové kasty, a dávnejšie vzniknuté kasty časom mohli postúpiť vyššie v hierarchii. Jednotlivca teda viazali neprekonateľné putá ku svojej kaste, ale kasta ako celok, čo sa týka vzostupu alebo zostupu na rebríčku pritom mala značnú samostatnosť (Surányi 1988, Wojtilla 1978).

Predkovia Rómov patrili pravdepodobne medzi príslušníkov najnižších tried indických kást, tzv. páriov, z oblasti severozápadnej až stredozápadnej Indie (Turner 1927, Block 1936). V súvislosti s pôvodom Rómov sú často uvádzané niektoré párijské kmene, u ktorých je možné ešte v súčasnosti pozorovať mnohé analógie s európskymi Rómami. Patria medzi ne napr. *Čangrovia*, *Dardovia* a *Sansiovia*.

Niektorí bádatelia hľadajú predkov dnešných Rómov v indickej skupine *Gade Lohar*, ktorá dnes žije kočovným spôsobom v oblasti indických štátov Rádžastán a Gudžarát. Ich hlavným zamestnaním je kováčstvo a obchod s ťažkými zvieratami; alebo v spoločenstve *Banjarov*. Sú to pôvodní kočovníci, žijúci sa najmä obchodom s dobytkom. Skupina Banjarov je dnes v Indii početnejšia. Žijú roztrúsene v 21 indických štátoch (najviac

Mobilita v rámci kastového systému

Obr. č. 9.:



India v období odchodu Rómov (podľa Baktayho 1981)

v Rádžastáne a Pandžábe) a spoločensky sú na vyššom stupni ako skupina Gade Lohar (Mann, 1995). Dalšími vytypovanými kastami sú *Dhamami, Dholi, Dom, Domra, Kanjar, Sansi, Kal - Bahelia, Bhangi, Madari, Sikligar, Rajput, Bhil, Brahui* žijúci v Radžasthane, Uttar Pradeši a Pandžabe, ako to uvádza Bernasovský a kol. (1998); ale spolieha sa na moderné antropogenetické metódy, aby sa tieto predpoklady potvrdili.

Dôvody odchodu Rómov z Indie nie sú celkom známe. Pravdepodobná príčina bola zrejme práve v tradičnej spoločenskej štruktúre a mechanizme disperzie skupín obyvateľstva. Izolovanosť najnižších kást neumožňovala nadobudnúť pocit spolupatričnosti k určitej miestnej makrosociete, takže nomádne a polonomádne skupiny sa presúvali hlavne kvôli uplatneniu zafixovaného spôsobu života.

Možno však uviesť aj iné možné dôvody ako sa domnieva Škvára (1997): Rómovia svojím odchodom sa snažili vymaniť z prísne kastovej spoločnosti, ktorá nedovoľovala manželstvá medzi "nedotknuteľným" a šúdrami či vajšíjskými remeselníkmi. Alebo možno že odchodom z rozkastovanej Indie hľadali Rómovia nové odbytište pre svoje služby a výrobky. Pravdepodobne k tomu prispeli aj časté suché obdobia a s nimi spojený nedostatok potravy, ktorú si "nedotknuteľní" zaopatrovali žobraním - činnosťou, ktorá v Indii nijako nebola opovrhovaná. No a nedajú sa prehliadnuť ani také príčiny odchodu Rómov, ako vpád Arabov do Indie v 8. storočí, alebo Tamerlánov vpád v rokoch 1408 – 1409, ktoré mohli presun Rómov urýchliť a mohli dokonca ovplyvniť aj smer ich cesty. A napokon mohlo ísť aj o vládcami iniciované presídľovanie.

Dôvody odchodu Rómov z Indie

Pravdepodobne všetko dohromady... Predkovia dnešných Rómov začali opúšťať Indiu najneskôr v 8.-9. storočí. Svedčí o tom opäť predovšetkým ich jazyk, v ktorom nie sú obsiahnuté zmeny, ktoré postihli príbuzné indické jazyky neskôr.

HISTÓRIA RÓMOV

Osobitosťou rómskej kultúry a spoločenskej organizovanosti je, že žili a dodnes žijú vedľa iných národov v cudzích krajinách. Do nedávnej minulosti nedisponovali písomnosťou, svoje zvyklosti prenášali ústnym podaním čo je typické aj pre indické kultúry. O histórii Rómov sa dozvedáme z inojazyčných, nepriamych prameňov, zo záznamov iných národov. Jeden z prvých takýchto záznamov je správa perzského básnika Firdawsiho v *Shah-Nameh* (Kniha Kráľov) že perzský šah Bahram Gur okolo r. 430 – 443 presviedčal indického kráľa Shangula, aby mu poslal 10 000 *Luri* hudobníkov do Perzského kráľovstva.

Ďalší kmeň Rómov sa spomína asi o 400 rokov neskôr, keď tiež istý perzský kronikár, Tabari, zapísal príbeh o tom, koľko *Zottov* sa dostalo do vezenia, keď Byzantská ríša r. 855 zaútočila na Sýriu.

Z tohto obdobia dejín Indie máme veľmi málo údajov, lebo oproti silnej byrokracii čínskych území, na území Indie nebolo vo zvyku zaznamenávať udalosti na poučenie pre ďalšie generácie. Napriek tomu, hlavne zo záznamov okolitých národov, z umeleckých pamiatok a z archeologických nálezov vieme, že na území Indie už pred niekoľkými storočiami pred naším letopočtom boli väčšie–menšie kniežatstvá. Územia, z ktorých pravdepodobne pochádzajú Rómovia, Pandžab a Sindh, práve v kritickom období exodusu Rómov (9.

Dôkazy prítomnosti Rómov v Indii

Pandžab a Sindh

storočie) boli napadnuté ganzskými moslimmi (z územia dnešného východného Iránu) pod vedením kráľa Mahmuda z Ghanzi, ktorý zotročil tu žijúce národy (odviedol 500 000 otrokov). Táto moslimská nadvláda trvala až do 15. storočia. Agresia zo strany moslimov mohla byť jednou z hlavných príčin odchodu Rómov z tohto územia.

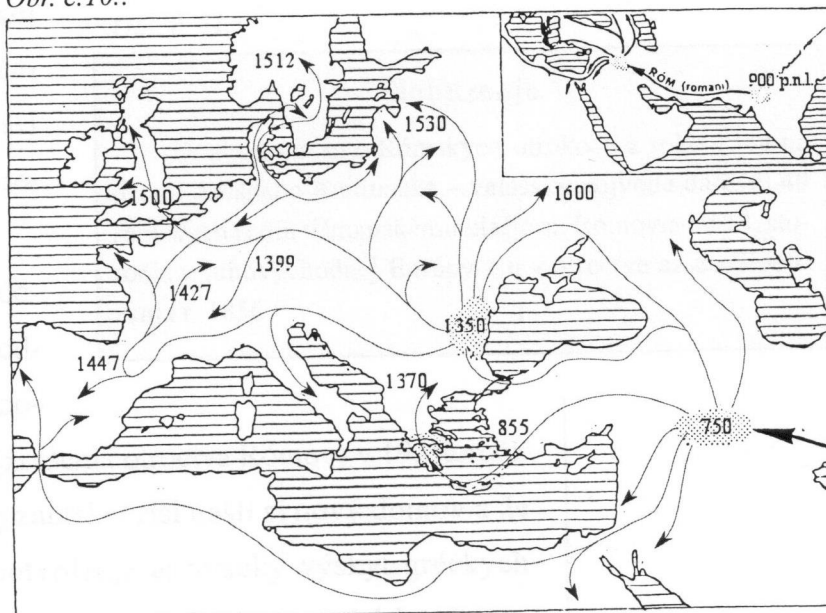
Odchod Rómov z indického subkontinentu prebiehal v niekoľkých migračných vlnách. Čas ich odchodu však nemôžeme posúdiť len zo záznamov svedčiacich o výskyte Rómov v Európe. Rôznymi autormi uvádzané časové rozpätie exodusu Rómov je od 3. do 10. storočia. Podľa rôznych dialektov rómskeho jazyka bola zisťovaná pravdepodobná trasa migrácie z Indie

cez Afganistan a Irán do Európy. Ich prvým dočasným domovom sa stala Perzia, kde sa pravdepodobne zdržali viac ako 100 rokov.

Pri putovaní k ďalším cieľom sa rozdelili do dvoch vetiev: Prvá zamierila na juhozápad do Sýrie, Egypta a

severnej Afriky, cez Gibraltár do Španielska, kde došli v 9.–10. storočí spolu s arabskými obyvateľmi. To potvrdzuje aj Clebert (1965), ktorý dokazuje, že jazyk Rómov v Španielsku obsahuje viac ako 2000 arabských slov, alebo slov z arabštiny odvode-

Obr. č.10.:



Trasa migrácie rómov

ných. Druhá vetva sa vydala smerom na Balkán cez Arménsko. Neskôr sa odtiaľ rozšírili ďalej na západ a sever.

Rómovia už pred r. 1000 došli do Byzantskej ríše (na územia dnešného Grécka a Turecka).

Písomnú zmienku o Rómoch v Európe nájdeme v rukopise *Život svätého Georga Antonita*, ktorý napísal jeho žiak Malý Georg okolo roku 1068 v kláštore Iveron na hore Athos (Grécko), ktorý opisuje príhodu na dvore byzantského cisára Konštantína Monomacha, ktorý si v roku 1050 povolal do Konštantinopolu skupinu „čarodejníkov“, aby kúzla-
mi zničili dravé šelmy v jeho poľovných revíroch. Pisateľ ich označil termínom *Adsincani*.

Mnoho historikov sa domnieva, že keby sme vedeli viac o Rómoch v Byzantskej ríši, objasnili by sa nám aj mnohé skutočnosti z ich života z dejín prebyzantského obdobia.

Okolo roku 1300 došli na územia juhovýchodnej Európy, kde žili zotročení až do *Slobuzenja* (zrušenia otroctva Rómov) v 19. storočí.

Hypotézu, že v Byzantskej ríši našli si nový domov a že sa tu zdržali dlhšie, potvrdzuje aj vysoký výskyt gréckych „príchodzích“ slov v ich jazyku. Ako to povedal jazykovedec Martin Block: „Počet cudzích, vypožičaných slov v rómčine korešponduje s dĺžkou ich pobytu v rôznych krajinách.“

Prvý písaný záznam o prítomnosti Rómov na Sicílii je v Byzantskej kronike a pochádza z roku 835 (Ferrer, 1965).

Obr. č. 11.:

Slobuzenje

Dozvedáme sa o Rómskych otrokoch z roku 1348 na území dnešného Rumunska – valašský vojvoda daroval 40 rómskych rodín tišmanskému kláštoru. Rómovia od 14. storočia v juhovýchodnej Európy žili v otroctve až do Slobuzenja r. 1856.

V neskorších storočiach na území vlády východnej cirkvi ale aj inde spomínajú Rómov: na Kréte od r. 1322, na Cypre prvýkrát r. 1332, na Korfu od r. 1346, v Nauplione spis z r. 1398 potvrdzuje už skôr získané práva Rómov. Od roku 1386 až do 18. storočia existoval na ostrove Korfu „Baronát Cigánov“ (Feudum Acin-ganorum), kde museli miestni Rómovia pravidelne platiť dane správcovi ostrova (Mann, 2000).

To, že Rómovia sa dlhšie zdržiavali v Grécku, je veľmi pravdepodobné, ale je tu problém ich označenia: V Grécku v 9. až 13. storočí pod označením *atsingkanoi*, *athinganoi* alebo *atsingani* chápali kresťanskú sektu (jeho členovia boli známi ako proroci a čarodejníci) – v preklade to znamená „vyhodený, vyobcovaný, nedotknuteľný“ (Guglielmo, 1992). Kanonista Theodore Balsamon zapisuje cirkevný zákon LXI. zo zhromaždenia v Trulhove, ktorý sa vyhráža šesťročným zákazom rozprávania pre hociktorého člena rádu Athinganoi, za vystavovanie medveďa alebo iných zvierat pre zábavu alebo pre prinášanie šťastia.

Či súveké písomné pamiatky sa vzťahujú na spomínanú sektu alebo na Rómov, je otvorenou otázkou. Obava je odô-

Obr. č. 12.:

Rómovia v Byzantskej ríši

Pramene, v ktorých nachádzame zmienky o Rómoch z obdobia Byzantskej ríše môžeme rozdeliť do rôznych kategórií podľa toho, kto ich zostavil. To určuje ich pohľad na Rómov a predurčuje, ako tieto pramene hodnotiť.

1. Cirkevné pramene, nomokanóny a listy patriarchov sú voči Rómom takmer vždy negatívne, pretože služby, ktoré poskytovali (produkcie s hadmi, predvádzanie cvičených medveďov, veštenie z ruky a artistické predstavenia) kvôli ich zábavnému charakteru cirkev zavrhovala.

2. Folklórne pramene ich trošku karikujú, ale mier-na irónia nie je nepriateľská.

3. Cudzie pramene – napr. od nemeckých, talianskych a arabských cestovateľov sa zachovali v hojnejšom počte, pretože čo pre domáce obyvateľstvo nebolo zaujímavé (zvykli si už na ich prítomnosť), to pre cudzincov pripadalo poznamenaniahodným: kováči, ševci, artisti.

**Atsingani
v Grécku**

**Označenie Róm-
skej skupiny v
rôznych jazykoch**

vodnená, lebo Rómovia sami seba nikdy nenazývali Cigánmi. A to, že v mnohých jazykoch sa používa toto označenie pre Rómov ktoré je možné odvodiť od gréckeho slova “vysotený” – ako po rusky *узган*, po česky *Cikán*, po nemecky *Zigeuner*, po maďarsky *cigány*, v bulharčine *tsigda*, v taliančine *zingari*, v španielčine *cingaro*, v portugalčine *ciganos*, atď. – z jazykovedného hľadiska je prijateľné, ale historickú kontinuitu tohto označenia pre toto etnikum treba ešte potvrdiť.

Obr. č. 13.: (Soulis, 1999)

Etymológia názvu *Rom*

Na jej lingvistickú súvislosť s kastovným označením (džatínymom) *Dom* upozornil indológ Hermann Brockhaus v dopise A. F. Pottovi v roku 1842: „*V zbierke príbehov od Sómadéva (Katháçaritságaram, 11. stor.) a v Kalhanových dejinách Kašmíru (Rádžatarangini, 11. stor.) sa nachádza slovo Domba... V hindštine sa skutočne vyskytuje slovo Dom, čím je označovaný príslušník nízkej kasty. Nemá toto slovo nič spoločného s názvom Rom? Neoznačovalo pôvodne nejaký národ alebo kmeň už na severozápade Indie, ktorý bol podrobený a vrhnutý do postavenia 'páriov'? Žiadny národ sa predsa nebude nazývať menom, ktoré znamená niečo nepočetného, hanlivého. To je predsa samozrejme. Len víťazní dobyvatelia môžu dať názvu podrobených hanlivý význam.*“ (A. F. Pott, I. diel, s. 42.) H. Brockhaus nielen že veľmi správne postrehol súvislosť medzi kastovným menom *Dom* a etnonýmom *Rom*, ktorá je – aspoň z lingvistického hľadiska – nevyvrátiteľná, avšak lepšie než ktokoľvek iný logicky usúdil historický proces, ktorý pôvodnú etnickú skupinu *Domov*, majúcich v dávnych dejinných dobách starej Indie aj istú štátotvornú moc, vrhol do situácie podrobenej sociálnej vrstvy - ‘nízkej’ kasty *Domov*.

Ich dnešné označenie *Róm* si zvolili sami pre seba. Vzniklo to pravdepodobne z označenia kasty *Dom*, *Dum*, čo sa medzi Arménmi zmenilo na *Lom* a v Európe na *Rom*. (Horváthová 1988, Soravia 1984).

Prvá zmienka o najstaršom príchode Rómov na územie Čiech je v *Kronike českej*, ktorú napísal v rokoch 1308-1314 Dalimil, a v ktorej sa v 82. kapitole dočítame, že v roku 1242 chodili po českých zemiach tatárski vyzvedači, ktorí nosili vysoké kužeľovité klobúky, priliehavé nohavice a krátke kabátiky, a ktorí si žobrali chlieb slovami “*Kartas boh*”, a pre-

**Kartasi na území
Čiech**

to sa nazývali *Kartasi*. Nie je ale potvrdené, či *Kartasi* prichádzajúci pred Tatármi do strednej Európy boli skutočne Rómovia.

Nie je jednoznačný ani výklad listu českého kráľa Otokára II., ktorý napísal r. 1260. pápežovi, a v ktorom podáva sprá-

vu, že vo vojsku maďarského kráľa Bélu IV. - popri mnohých vazalských národov - boli aj Rómovia. (V liste sa vyskytuje označenie *gingari*, čo jednotliví historici chápu ako *cingari* = Cigáni, iní ako *bulgari* = Bulhari). Iné pramene v tomto storočí ešte nespomínajú Rómov v strednej Európe, až v *Popravčí knihe pánů z Rožmberka* (1399), istý lúpežník pri svojom výsluchu uviedol, že k jeho tlupe patril „Cikán černý, Ondřejův pacholek“. Išlo tu skutočne o Róma, alebo o človeka, ktorý používal označenie Cikán ako meno alebo prezývku. V každom prípade však už to prostredie v tej dobe poznalo príslušníkov rómskej etnickej skupiny.

Pravdepodobne sa Rómovia do Karpatskej kotliny dostali už skôr. Nevyvrátiteľné dôkazy o tom nájdeme z prvej polovice 14. storočia vo forme priezvisk a miestnych názvov vyskytujúcich sa v spisoch z územia Uhorska – spomína sa tam Michael de Czigány v spise z r. 1339, a László syn Domokosa Zigánya z roku 1373. Existujú údaje aj o pravotiacich sa Lászlóa Zigánya, Istvána Zigánya a Mátyása Zigánya z r. 1377. Okrem toho sa spomínajú aj priezviská Cigány, Czi-

Obr. č. 14.:

Kartasi

Podľa tvrdenia prof. Jülga znalca kalmycko-mongolského jazyka, slová „*Kartas boh*“ sa nedajú vysvetliť z mongolčiny, ale z rómčiny, a znamená to „nastal hlad“. Podľa toho prvý vydavateľ Dalimilovej kroniky, J. Jíreček vyslovil domnienku, že Kartasi pripomínali svojim oblečením a aj jazykom Rómov. Starí bádatelia túto hypotézu prevzali, moderní voči nej majú výhrady. Aj novodobý orientalista a filológ prof. Lesný to popiera, a pripúšťa možnosť len náhodnej podobnosti slov, alebo jeho skomolenia autorom Dalimilovej kroniky (Jamnická-Šmergllová, 1955).

“Cigánske”
priezviská

gány, Cigáni, Zigány, atď. – a to všetko v spisoch spred r. 1400. V roku 1377 už existovala aj osada *Egyház-Zigány* (Cigánske Kostolany) (Tomka, 1983).

V 14. storočí sa Rómovia dostali na Slovensko. Spišskonovoveský richtár Ján Kunch pri opise majerov z roku 1322 uvádza, že sa potulujú v okolitých lesoch. V roku 1417 sa dostala veľká skupina Rómov do Budína a Pešti a cez Budín, Szatmár a ďalšie maďarské mestá aj na východné Slovensko do Košíc. Prvou oblasťou, kde sa začali intenzívnejšie usadzovať bol Spiš. Skupina usadená pod Spišským hradom preňho pracovala ako „*jobagiones castris curiales*“. Pripravovali drevo, zbierali lesné ovocie, starali sa o poľovníckych psov a pomáhali pri poľovačkách.

Víťazne rozmáhajúca sa turecká moc v druhej polovici 14. storočia na juhovýchode vyhnala ďalších Rómov na putovanie. Turci postupne ovládli Trákiu, Valašsko, Bosniu a Macedónsko. Balkán a Malá Ázia sa na štyri storočia dostali pod tureckú nadvládu. To bolo dostatočným dôvodom pre veľké skupiny ľudí, aby sa pobrali ďalej, hlavne ak nepatrili pod žiadneho feudála, a neboli ani natoľko bohatí aby ľutovali svoj majetok hodiť napospas Turkom. Preto medzi sťahujúcimi sa skupinami prevládali Rómovia.

Rómovia sa poberali, smerom na severozápad. Zo začiatku 15. storočia hlavne z oblasti Sedmohradska pochádzajú správy o tom, kto čo a koľko toho im daroval. Napr. podľa záznamov v účtovnej knihe Andrása Horvátha z r. 1417.: „Dali sme 40 oviec chudobným pútnikom z Egypta, aby potom po návrate do Jeruzalema sa modlili za naše duše.“ (Tomka, 1983).

Karpatskú kotlinu Rómovia opustili cez Bratislavu. Za Bratislavou sa rozdelili do troch skupín. O ich postupe po-

Rómovia na Slovensku

Turecké rozpínanie

Trasa migrácie

chádzajú záznamy z rôznych miest v Rakúsku, Švajčiarsku, Taliansku, Francúzsku a Španielsku z 15. storočia.

V tom istom storočí prenikali Rómovia i na sever Európy. Západný prúd prešiel cez Nemecko a Holandsko do Dánska a Nórska (16. storočie). Východný prúd smeroval z Poľska cez územie Ruska a Fínska do Švédska. Príchod Rómov do Anglicka sa datuje na rok 1500. Na americký kontinent a do Austrálie sa dostali až v druhej polovici 19. storočia.

Po Grécku Uhorsko bolo druhou zastávkou na púti Rómov smerom na západ... Každý súcitil s "chudobnými pútnikmi". Dostávali materiálne podpory a odporúčacie listy. Palatín Miklós Garai ich odporúčal do pozornosti kráľa a cisára Žigmunda – a od tej doby Rómovia putovali pod záštitou cisára. Ochranný list pre nich vydal cisár r. 1417 v Lindau. Tento list je však problematický z obsahovej stránky – pretože všade, kde sa s ním preukázali, záznamy hovoria o rovnakom obsahu - Žigmund ich nazýva pútnikmi z Malého Egypta. Podľa listiny, putujúci pred časom zapreli svoju kresťanskú vieru, ale potom obanovali svoj hriech a ako pokánie sedem rokov musia putovať vo svete, aby si vyslúžili odpustenie. Ochranná listina vyzýva ľudí na ich podporu a ochranu.

Tvrdenia o ich údajnom maloegyptskom pôvode a legenda o odpadlícťve a pokání mohol pochádzať jedine od samotných Rómov. Dlho sa pochybovalo o tom, či vôbec existoval kraj ktorý sa nazýval Malý Egypt, alebo len potrebovali dať svojmu príbehu historický kontext, čo vyriešili bravúrnym nápadom. Veď kto by zapochyboval o existencii Malého Egypta, keď o Egypte už každý počul... V blízkosti mesta Methone na Peloponéze v Grécku sa však nachádza pahorok, ako to uvádza Vaux de Foletier (1974), ktorý rov-

Ochranný list

Legenda o Malom Egypte

nako ako k nemu priliehajúce teritórium sa nazýva Gype, alebo Malý Egypt. Na tomto pahorku a v jeho okolí sa nachádzalo okolo 100-300 biednych rómskych šiatrov, ktorých obyvatelia sa živili prevažne kováčstvom ale aj obuvníctvom a garbiarstvom. Preto oprávnené sa možno domnievať, že pôvodne Rómovia pod názvom Egypt mali na mysli uvedenú lokalitu, ako miesto ich pôvodu, a nie Egypt v severovýchodnej Afrike. Ale v podstate je to jedno. Celý príbeh vynikajúco bol prispôsobený politickým a náboženským potrebám doby: Listina pochádza od Žigmunda, ktorý poznal Palestínu, čiže mohol hodnoverne sprostredkovať tamojšiu situáciu a bol si vedomý aj tureckej hrozby, a bol navyše na samom vrchole svojej moci. Bol najmocnejším panovníkom Európy, a mocnejšieho ochrancu by si Rómovia ani nemohli želať.

Tejto ochrannej listine ľudia bez váhania uverili, a bez výhrad ju akceptovali aj počas nasledujúcich storočí. A nezapochybovali, aj keď predpoklad, že Rómovia sa dostali pred palatína Garaiho (ktorý sa neustále zaplietal do strojenia úkladov) a potom od neho sa rovno dostali pred cisára, ktorý odložil riešenie konfliktov medzi cisárstvom a pápežom, a venoval sa im, uveril ich príbehu a hneď vydal ochrannú listinu, je nepredstaviteľnou sériou šťastia. Ale čo je najmenej uveriteľné, že tú istú ochrannú listinu ich majitelia predložili počas ďalších dvoch rokov na rôznych miestach Európy: v r. 1417 v Hildesheime, Magdeburgu, Soeste a v rade ďalších východných miest, r. 1418 v Meissene, Leipzigu, v Hessene, v Frankfurt am Maine, vo švajčiarskom Aargau a Zürichu, r. 1419 vo francúzskom Sisterone. Podľa viacerých správ cestovali v tristočlenných skupinách, ženy a deti na vozoch. Čiže putovali celé rodiny. Ak navštívili všetky spo-

**Methone
v Grécku**

Naraz na niekoľkých miestach?

mínané mestá absolvovali asi 4000 km za dva roky, čiže približne 40 km za deň, ak nikde netáborili dlhšie ako týždeň, a putovali aj počas zimy. Dá sa to vysvetliť len tak, že vlastnili viac (minimálne 2) sfalšovaných alebo sčasti sfalšovaných listín, ako sa domnieva aj Tomka (1983).

Od r. 1423 jedna skupina putovala s novým cisárskym ochranným listom, ktorý vystavil Žigmund na Spišskom hrade pre vojvodu Ladislava. Jeho celý text sa zachoval v Kronike presbytra Andreasa z Regensburgu. (Text ochrannej listiny v peklade je na Obr. č. 15.)

Dôležitou novinkou ochrannej listiny je právo súdenia vo vlastnej veci.

Vplyv Žigmunda nesiahal na územie Francúzska a Talianska. Tam prichádzajúci Rómovia sa ani neodvolávali na neho, ale snažili sa získať ochrannú listinu od pápeža, čo sa im po čase aj podarilo.

V západnej Európe sa predstavovali ako kresťania, putujúci od Božieho hrobu. Stredovekí človek, drejuci na poli, chápal putovanie ako určitú formu pokánia alebo trestu. Rómovia tieto domnienky podporovali prehnanou "katolíčnosťou" a vlastnými legendami. Legenda o ich pôvode sa objavila v niekoľkých verziách: Vo Švajčiarsku rozprávali, že musia svojím putovaním činiť pokánia za hriechy svojich otcov, ktorí odmietli prijať Pannu Máriu s Ježišom, keď utekali pred Herodesom do Egypta. Druhá legenda slúžila ako ospravedlnenie za kočovný spôsob života: putujú za trest, lebo zapreli kresťanstvo a musia si túto zradu odpykať neustálym putovaním z miesta na miesto. Táto verzia sa potom ešte doplnila staťou, že za tento ich hriech im Žigmund zobral krajinu, a preto teraz blúdia po svete. Táto legenda šikovne stavia na odpor-

**Nový
ochranný list**

**Katolíčnosť
Rómov**

*M*y, Žigmund, z milosti Božej rímsky kráľ,
večný zveladiteľ Ríše, kráľ Uhorska, Čiech, Dalmácie, Chorvát-
ska, atď. milostne zdravíme všetkých šľachticov, vojakov, veliteľov,
úradníkov, richtárov, našich hradných a mestských prívrencov
v Ríši žijúcich alebo
patriacich pod našu vládu.

*N*áš verný človek, Ladislav, vajda Cigánov, a jeho príbuzní sa
obrátili na nás po našu ďalekosiachajúcu priazeň. Preto súhlasiac
s ich poslušným želaním priznávame im túto výmencosť, tak
v prípade, že ten vajda Ladislav a jeho ľud príde na územie alebo
do mesta patriaceho pod našu vládu, porúčame ich do vašej mi-
losti a nariadujeme, aby ste vajdu Ladislava a jeho cigánskych
poddaných každým spôsobom ochraňovali, aby ste im neprekážali,
aby ste im život neohrozovali, ale práve naopak, aby ste ich ochra-
ňovali pred obťažovaním a pred nepríjemnosťami.

*A*v prípade, že by sa medzi nimi našiel zmýlený, alebo by
došlo k zvade hocikiaľ to prameni, nie jest vaše ani ničie spome-
dži vás je právo trestu a milosti, ale je
toho Ladislava, ich vajdu.

*V*ydali sme na sídle panovníckom, v 1423. roku Pána, v 36.
roku nášho uhorského kráľovania, v 12. roku nášho rímskeho ci-
sárstva, v 3. roku nášho českého kráľovania, v deň mučeníka Sva-
tého Juraja.

Obr. č. 15: Ochranný list pre vajdu Ladislava (Szegő, 1983)

né myšlienky proti vplyvnému ale násilnému Žigmundovi.

Iná legenda za dôvod pokánia označuje to, že rómski
kováči ukovali kince na Ježišove ukrižovanie.

Ďalšia legenda ktorú uvádza Horváthová (1961) zobra-

Legendy
o pokání Rómov
za hriechy

zuje Rómov ako štátotvorný národ z Egypta: „Za Mojžišových čias boli Židia otrokmi Rómov. Rómovia im prikázali ísť do boja, ale Mojžiš pripravil útek Židov cez Čierne more. Mojžiš more rozdelil a Židia prenasledovaní Rómami prešli na druhú stranu. Po Židoch sa more uzatvorilo a väčšina Rómov v ňom zahynula. Zachránila sa iba malá časť, a aj tí sa podelili na skupinky a rozišli na všetky strany sveta. Podľa ich niekdajšieho vládcu Faraóna Rómov nazývajú ľudom faraóna“.

Vo všeobecnosti západoeurópske domáce obyvateľstvo ich prijímalo ako chudákov, navyše boli chránení sprievodnými listinami, ktoré vystavil pápež alebo feudál. Ochranná listina bola vystavená na vajdu skupiny. Vajda, Rómami nazývaný aj „Mujalo“ predstavoval v našej terminológii náčelníka rodu. Táto forma odvodená od slovanského termínu vojvoda, je vyjadrením taktiky kočovných skupín prezentovať svojho vodcu v najvyššej spoločenskej kategórii tej krajiny, v ktorej sa nachádzali.

Ale počiatkové priateľské privítanie na západe onedlho vystriedali nepriateľské reakcie, keď vysvitlo, že mienia zostať.

Keď od 14. storočia začali sa objavovať *Gitanos* v Španielsku, *Gypsies* v Anglicku, *Gitanes* alebo *Tsiganes* vo Francúzsku, *Zingarovia* v Taliansku, *Zigeuner* v Nemecku a *Cigáni* na slovanských územiach, budili predovšetkým zvedavosť svojím exotickým vzhľadom, a tiež pre dosiaľ nevídané schopnosti, ktoré so sebou prinášali. Muži boli výborní muzikanti, ženy výborné tanečnice. Ovládali veštenie z dlane alebo kariet, krotili medvede a podkúvali kone...

Svoje potreby si zaobstarávali popri kočovaní aj ako kováči. Predpokladá sa, že znalosť spracovania kovov si pri-

**Vajda -
vodca Rómov**

niesli ešte z indickej pravlasti. Tzv. „kovanie za studena“ bolo pre niektoré východoeurópske krajiny novinkou. K rozšíreným činnostiam patrilo aj priekupníctvo. Ďalšie zdroje obživy predstavovali príležitostné zárobky muzikantov, nekvalifikovaných nádenníkov, pomocných robotníkov a neprofesionálnych remeselníkov. Remeslá sa deti učili od rodičov a takto sa udržiavali rovnaké druhy profesií (kotlári, zvonári, metlári, košíkári, tehlári atď.).

Rómovia sa živili aj krádežami. Tento koristnícky spôsob obživy vyvolával nevôľu obyvateľstva a stolice sa pred nimi začali chrániť nariadeniami.

Postoj domorodcov k nim sa stále zhoršoval, lebo Rómovia sa neusádzali a nesnažili sa uplatniť ako poddaní. Mestá zase neprijímali príbehlíkov, odkundešov. Kresťanské cítenie pohýnalo ľudí k poskytnutiu almužny, ale to bolo všetko. A to hlavne preto, lebo ich výskyt bol čoraz častejší. V období reformácie, ktorá sa začala husitskými reformami, sa totiž postoj cirkvi ale aj obyvateľstva zmenil aj ohľadom podpory žobrákov. Každá náboženská obec živila len svojich mrzákov a žobrákov, a cudzích poslali naspäť odkiaľ prišli. Odmietavý postoj väčšinového obyvateľstva postihol hlavne Rómov. Po takej zmene postoja Rómovia sa už viac nemohli spoliehať na kresťanskú milosť obyvateľov, ktorí ich vyhánali zo svojich chotárov, a ktorých nezaujímal, či majú kam ísť.

Obr. č. 16.:



*Tanec pri ohni (Ficowski,
ISBN 83-223-2321-2)*

**Mestské brány
sa zatvárajú**

Mestské brány sa postupne uzatvárali pred nimi: r. 1422 do Bologne vpustili už len ich vodcu, Bamberg r. 1463 pripieval im len v prípade, že neprekročia mestské brány, a r. 1449 násilím ich odohnali z Frankfurtu (Tomka, 1983).

Je možné, že jedným z dôvodov rozporov bolo, že kočovní Rómovia chápali právo na súkromný majetok inak ako mešťania. A neproselo im ani to, že postupne medzi seba prijímali zločincov, tulákov a iných vysotených zo spoločnosti. No a vplyvom tureckej hrozby tento ľud neznámeho pôvodu, s nejasným cieľom a smerovaním, ktorý sa objavoval vždy a všade, ostatné obyvateľstvo ich už nevnímalo ako pobožných kajúcich, ale ako predzvesť a pripravovateľov ďalekej hrozby. Začali ich považovať za tureckých vyzvedačov, špiónov.

Nemecký ríšsky snem ich r. 1479 oficiálne vyhlásil za špiónov, a r. 1480 ich vylúčil spod ochrany práva a zákona. Od tej doby zločiny spáchané na úkor Rómov sa neodsudzovali a neboli trestané. Napokon po vyhlásení Žigmundovej ochrannej listiny za neplatnú, ich vypovedali z krajiny.

Ale viera v špiónárstve Rómov asi nevznikla bezdôvodne. Uhorskí panovníci ich skutočne zamestnávali ako špiónov – poskytovali cenné informácie o pohybe tureckých vojsk. A samozrejme pracovali nielen pre nich, ale aj pre Turkov. Z tohto obdobia nám o Rómoch poskytujú cenné údaje turecké pramene. V tureckej armáde pracovali ako zbrojáři, holiči, hudobníci a kati.

Ani v ostatných krajinách Európy nebola situácia o nič lepšia ako v Nemecku: Zo Španielska Rómov vypovedali r. 1492 a 1499, v Nizozemsku ich Karol V. prenasledoval ako pohanov, vo Francúzsku Ľudovít XIII. a aj Ľudovít XIV. vied-

Tureckí vyzvedači

Opatrenia voči Rómom

Rómski špióni

li proti nim výhubnú vojnu, v Anglicku, Ženeve a Miláne im hrozili trestom smrti. Dokonca aj pápež ich vypovedal z územia Cirkevného štátu.

Rómovia behom necelého storočia sa odrazu našli v maximálne odmietavom a nepriateľskom prostredí. Kým vo východnej Európe a na území Uhorska strpeli Rómov, v západnej Európe boli stíhaní zákonmi. Zo západoeurópskych

krajín sa pokúsili ich vytlačiť na územia strednej a východnej Európy, ale pretože tie snahy neboli úspešné, zavádzali proti nim čoraz prísnejšie a krutejšie opatrenia. Podľa nemeckých zákonov Rómov mohli zabíjať a rómske ženy sa mohli znásilňovať bez trestu. Podľa zákona sa mali vybičovať, mal sa im zhabať všetok majetok, dokonca v niektorých provinciách im hrozil trest smrti. V skutočnosti to proti nim použili len v ojedinelých prípadoch. Predsa táto hrozba ich motivovala stiahnuť sa naspäť do východnej Európy. Tí, ktorí ostali, spojili sa so zločin-

**Protirómske
zákony v západ-
nej Európe**

Obr. č. 17.:

Rómovia z Veľkej Idy

O prítomnosti Rómov v Košickej kotline hovorí príbeh spracovaný aj v krásnej literatúre Jánosom Aranyom pod názvom *A nagyidai cigányok* (Cigáni z Veľkej Idy).

Podľa príbehu, ktorý vychádza z historických faktov roku 1556 po dvanásťdňovom obliehaní veľkoidského hradu cisárskymi vojskami kapitán hradu usúdil, že im ostalo málo munície a potravu majú už len na tri dni. Preto sa rozhodol pevnosť potajomky opustiť. Predtým sa však dohodol s vajdom Rómov (ktorí táborili pri dedine a pred nebezpečenstvom našli úkryt v pevnosti), že ak ubránia veľkoidský hrad proti labancom (cisárskym vojskám) tak hrad a celé panstvo in prípadne. Vajda ponuku prijal, a po odchode kapitána a jeho ľudí sa Rómovia vrhli na ostatok zásob aby oslávili neočakávanú príležitosť. Pri oslavách na počesť vajdu a vzniku Cigánskeho štátu v noci vystrieľali aj ostatok pušného prachu. Veliteľ cisárskych vojsk však nevedel ako chápať zvuky paľby, preto sa rozhodol presunúť svoje ťažké zbrane ešte počas noci na druhú stranu pevnosti. Pevnosť však z druhej strany obliehal močiar, a v tme a rozruchu sa vozy prevrátili a ťažké delá pohltila močiar. Z dvadsiatich diel sa podarilo zachrániť iba tri... Veliteľ sa preto ráno rozhodol stiahnuť sa, čo by znamenalo výhru Cigánov. V poslednej chvíli sa však Cigáni prezradili, lebo keď ráno uvideli odchádzajúcich labancov, začali sa radovať a spravili veľký hurhaj. Keď cisárske vojská zistili, že hrad bránili amatéri, nabrali nové sily a hrad ľahko dobili.

cami a spodnou vrstvou spoločnosti. Na mnohých miestach ich už ani nepokladali za Rómov, ale jednoducho ich považovali za ubehlíkov a tulákov (*gypsy*).

V strednej Európe postavenie Rómov bolo úplne iné. Nedostatok ľudí – hlavne remeselníkov – a vojnová pohotovosť ponúkala aj pre nich široké uplatnenie ako kováčov zbraní, alebo nádenníkov pri opevňovacích prácach. Roku 1423 na Spiši jedna skupina Rómov za takéto služby dostala privilégiá od Žigmunda; Kráľ Matiaš zase r. 1476 dal vymoženosti Rómom pracujúcim na opevňovaní hradieb mesta Nagyszeben (dnes Sibiu v Rumunsku). Dokonca sú známe prípady, že im darovali pôdu. Ako napr. Bethlen Gábor daroval pôdu človekovi s menom *Czigány Hegedűs György* (Juraj Cigán Huslista) (Tomka, 1983).

Na území Uhorska sa rómsko-maďarský konflikt neprejavoval vo význačnej miere až do 16. storočia. Najmä preto, lebo tunajších Rómov zamestnávali ako pomocné sily v poľnohospodárstve a aj v priemyselnej výrobe, a tak sa mohli usadiť aspoň na krátku dobu. Získali zručnosť predovšetkým v obrábaní kovov, a vo výrobe pušného prachu, guliek do pušky a dela, a ako delovodcovia a zbrojári.

V tých dobách sprevádzalo Rómov kovoobrábanie. Cigánski kováči kuli železný trón a korunu na popravu pre Dózsu, ako aj zbrane pre Rákócziho proti Turkom. Ale neboli o nič menej uznávaní ani sedmohradskí rómski ryžovači zlata, ktorí mali špeciálne výsady, ako napríklad spoločné odvádzanie daní. Od 16. storočia ich, čím ďalej tým častejšie stretávame aj ako uznávaných hudobníkov, ako napr. na hatvanskom sneme r. 1525 mnohí magnáti mali stálych hudobníkov, ale cigánska hudba prišla do módy aj na meštianskych a sedliackych zábavách.

**Postavenie
Rómov na území
Uhorska**

**Integrovanie
Rómov
do spoločnosti**

O ich všeobecnom uznaní na tomto území oproti iným krajinám na západe a aj na východe svedčia dokumenty, ktoré potvrdzujú ich zastúpenie skoro vo všetkých okruhoch práce – pracujú ako kováči, hudobníci, baníci, nádenníci v poľnohospodárstve, ba dokonca aj ako vojaci, čo je prejavom hlbkej dôvery voči nim, lebo Židom uznali toto právo až o tri storočia neskôr.

O prítomnosti a postavení Rómov v Karpatskej kotline v tomto období okrem historických záznamov sa dozvedáme aj z ľudovej a literárnej tvorby. Aj z diela Jágerské hviezdy od G. Gárdonyiho (1960), ktoré sa zakladá na historických faktoch je zrejmé, že Rómovia v tedajšom spoločenstve zohrávali veľmi významnú úlohu. Tvorili neoddeliteľnú súčasť spoločnosti, a tak isto ako Maďari, Turci a iné národy žijúce v období tureckej nadvlády na tomto území.

Tu ich do asimilácie nikto nenútil. Až koncom 16. storočia začína proces, vplyvom ktorého pre nich ostávajú len tie najnepríjemnejšie a najopovrhovanejšie práce, ako napr. úloha kata. Sú to prvé znaky ich spoločenskej izolácie. Kým na začiatku storočia skupiny Rómov asimilovali do sedlaciej spoločenskej vrstvy, ba dokonca mohli získať aj šľachtickú hodnosť, časť z nich sa nevedela prispôsobiť požiadavkám väčšinovej spoločnosti.



Obr. č. 18.: Czinka Panna slávna primáška z Gemera

Prenasledovanie v západnej Európe sa ani naďalej nezmiernovalo. Tvrdé represálie zahájil voči Rómom po tridsaťročnej vojne Leopold I. v rakúskych zemiach – r. 1688 vypovedal ich z krajiny. Vláda Jozefa I. priniesla uvoľnenie napätia, ale Karol IV. už vo svojom nariadení z r. 1697 prikázal trestať na hrdle nielen mužov ale aj ženy. Až v 18. storočí na západe nastali veľké zmeny v spoločenskom postavení Rómov. Turecká ríša nezastaviteľne upadala natoľko zjavne, že súdy oslobodzovali Rómov s odôvodnením, že už sotva chcú priviesť Turkov do Drážďan. Obvinenie zo špionáže sa stalo neopodstatneným.

Integrácia, spoločenské a kultúrne pozdvihnutie Rómov aj na západe sa stalo štátnym záujmom. Toto presvedčenie vzniklo z poznatku, že prenasledovanie nepomohlo. Napriek všetkej snahe sa ich nepodarilo vyhubiť – vzniknutú situáciu bolo treba riešiť iným spôsobom:

V Španielsku sa zakázalo používanie označenia *gitano* (Cigán), a všetkým tým, čo sa vzdali používania rómskeho jazyka sa otvorila možnosť zastávania všetkých štátnych funkcií a zamestnaní (1783). V Prusku sa snažili ich usadiť tak, že sa im rozdávala pôda. Všetky snahy smerovali k asimilácii Rómov.

Nebolo to inak ani na území Uhorska. Do južných a juhovýchodných vyľudnených žúp po vyhnaní Turkov prúdili Rumuni, Srbi a Rómovia, kde sa im rozdávala pôda. Rómovia

Zmena ich postavenia na západe

Obr. č. 19.:



Rómske deti sa dívajú na svet (Ficowski, ISBN 83-223-2321-2)

sa však neusadili. R. 1761-63 zanechali výborné pôdy v Temešskom banáte a putovali ďalej. Ich stále sa zvyšujúce počty znamenali pre spoločnosť čím ďalej tým väčšie problémy.

Známe reformy 18. storočia vykonané Habsburgovcami, hlavne Máriou Teréziou a Jozefom II. boli realizovateľné vďaka tomu, že dynastia, trón a panovník boli posvätnými a nedotknuteľnými velikánmi pre národy monarchie. Nepochybne to súviselo s nadnárodným charakterom dynastie, keďže takýto obraz pretrvával vo vedomí ľudí, a to napriek tomu, že od konca 18. storočia dochádzalo k zjavnej germanizácii politiky i vonkajšieho vzhľadu dvora.

Mária Terézia a ani Jozef II. nepochybovali o tom, že rómska otázka sa vyrieši cestou humánneho zákonodarstva a politiky. Kvôli tej nenásilnej politike ich nariadenia mali len polovičnú úspešnosť. Napriek tomu neexistuje krajina (okrem dnešných čias), kde by spravili toho viac v prospech Rómov ako na území Uhorska v 18. storočí. Otázne je len to, že či dobromyseľné snahy viedenského dvora vyhovovali aj predstavám a požiadavkám Rómov...

Hlavnou zásadou dvora bola predstava (ako to uvádza Tomka, 1983), že *od prírody je každý človek seberovný* – z toho vychádzajúc hlavnou líniou rómskej politiky bolo zabrániť hocijakému rozlišovaniu a diskriminácii, a tak na základe rozhodnutia Márie Terézie r. 1761 bolo zakázané používať aj označenie Cigán. Namiesto toho, ak bolo bezpodmienečne nutné ich osobitné označenie, navrhoval použiť *Nový-Sedliak* alebo *Nový-Madžar* (v prípade, že hovoril po maďarsky).

Ale takáto rovnosť v chápaní viedenského centralizmu znamenala aj rovnomerné znášanie bremien a rovnaké pri-

18. storočie
- obdobie veľkých
zmien

Reformy
Márie Terézie

spôsobenie sa k požiadavkám štátnej moci. Znamenalo to pre Rómov zákaz kočovania (od r. 1761 všeobecný zákaz kočovania; od r. 1767 je zavedený povinný passport aj na cestovanie vo vnútrozemí; a od r. 1783 platí všeobecný zákaz cestovania a navštevovania jarmokov a pútnických miest). Je síce pravdou, že v týchto zákonoch bol kladený dôraz na trvalé usadenie a nie na zákaz pohybu, ale meravosť zákonov prevyšovala len ich naivitu. Nariadenie z r. 1773 zaväzovalo župy, aby všetkým Rómom žijúcim v stanoch zabezpečili pevný dom na bývanie, a aby ich tvrdo sankciovali v prípade ak ten dom opustia – len o tom sa nezmieňoval, že odkiaľ sa mali vziať tie domy...

Výučba rómskych detí podľa nariadenia z r. 1783 bola bezplatná a dozor nad ich výučbou mal vykonávať farár. Lenže v tom čase ešte neexistovala všeobecná základná výučba a nebolo jasné, že o akú výučbu by malo ísť, a kde by sa to malo realizovať. Podľa výzvy z r. 1767 sa mali prijať 12-16 roční Rómovia ako učni do cechov, a po vyučení mali byť prijatí do cechu. Realizácia tejto výzvy stroskotala pravdepodobne na nesprávnom predpoklade záujmu Rómov o vyučenie remesla. Napriek tomu r. 1780 vláda zapísala do školy 8388 rómskych detí, ktoré boli v štátnych sirotincoch a ďalších 9463 dala do pestúnskej opatery (Guglielmo, 1992).

Rýchlo vysvitlo, že s centrálnymi nariadeniami určenými na pozdvihnutie Rómov oni sami nesúhlasili, nestotožňovali sa s nimi, ba dokonca vyvíjali odpor a znemožňovali ich realizáciu, lebo to považovali za utláčanie.

Dlhý čas nebola doriešená otázka, či Rómovia môžu chovať kone, alebo nie. Domnievali sa, že povolenie chovu koní je jedným z úskalí trvalého usadenia Rómov, lebo Róm, kto-

Školopovinnosť

Chov koní

rý vlastní koňa sa ľahko dá zase na putovný život a tiež má na čom sa dať na útek po prípadnej krádeži. Ale ak nemohol vlastniť koňa, s čím si mal obrábať pôdu?...

Zákon z r. 1767 a 1773 bol formálne zákonom na ochranu rodiny. Podľa neho sa Rómovia mohli zosobášiť len ak preukázali potvrdenie o trvalom pracovnom pomere a vedomosti z katolíckeho náboženstva. Ak tieto dve požiadavky boli splnené, obec bola povinná zabezpečiť veno pre nevestu. V prípade, že sa požiadavky nespĺnili, platil zákaz zosobášenia.

Najzávažnejšie nariadenia sa týkali rómskych detí, podľa ktorých – vraj v ich prospech – po dovŕšení štvrtého roku života boli odobraté svojim rodičom a mali sa umiestniť v nerómskych kresťanských meštianskych alebo sedliackych rodinách, ktorým obec alebo mesto za každé dieťa malo platiť náklady na výchovu dieťaťa, v závislosti od pohlavia a veku dieťaťa. Absolutistická vláda tento zákon viackrát potvrdila (r. 1767, 1773 a 1783), no napriek tomu sa nedal realizovať - až na pár prípadov - z dôvodu odporu rómskych rodičov a nezájmu zo strany možných pestúnov, vychovávateľov.

Nariadenia týkajúce sa Rómov Jozef II. roku 1783 doplnil zákazom používania rómskeho jazyka, zákazom obchodovania s koňmi a zákazom chodenia rómskych detí bez oblečenia. Taktiež nariadil aby sa Rómovia venovali poľnohospodárstvu, navštevovali omše, a aby sa podriadovali miestnej administratíve a súdnictvu.

Následkom nariadení niektoré skupiny prestali kočovať, ale mnohí pre neznalosť praktického života nespĺnili asimilačné očakávania. Tí zväčša sa sťahovali do stolíc, kde bolo vykonávanie nariadení menej dôsledné.

Sobášne nariadenia

Deti v pestúnskej starostlivosti

Nariadenia Jozefa II.

Rómska politika Márie Terézie a Jozefa II. – napriek svojej nedôslednosti a niektorým antihumánnym črtám – mala bezpochybné pozitívny dopad, pretože dôsledkom nej sa uvedomila zodpovednosť spoločnosti voči Rómom.

V rokoch 1780-83 na území Uhorska žilo asi 40-50 tisíc Rómov usadeným spôsobom života (o neusadených nie sú údaje). Títo Rómovia si obrábali pôdu, alebo vykonávali remeselnícku činnosť, žili v domoch a obliekali sa podľa zvykov väčšinového obyvateľstva. V jednej dedine žilo 1-2 takýchto rodín.

Tieto údaje tiež potvrdzujú, že Rómovia boli spoločensky uznávaní na území Uhorska nielen v 15.-17. storočí, ale aj v 18. storočí. Neboli "večne utláčanými vydedencami spoločnosti". Na Uhorsku, kde boli presuny celých skupín ľudí a jazyková a etnická mnohorakosť bežným javom, ani nič neodôvodňovalo ich obzvlášť utláčanie alebo negatívnu diskrimináciu.

Rómovia imigrovaní ešte v rokoch 1400-1500, postupne do 19. storočia zabudli na svoj pôvod, jazyk a asimilovali. Mnohokrát zmenili aj priezvisko. Tí, čo prišli z Balkánu po vyhnaní Turkov, mali ťažšiu úlohu, pretože prišli z oblasti nižšej spoločensko-ekonomickej úrovne, a tak sa nevedeli začleniť do stredoeurópskej spoločnosti. Tieto novopríchodzie skupiny a niektoré tie najmenej prispôsobivé skupiny Rómov z prvej vlny prisťahovania sa od samého začiatku sa izolovali a tvorili spodinu spoločnosti. A nebolo to inak ani na západe, kde ekonomické, sociálne a politické pomery, ani v skorších dobách nepriali integrácii Rómov.

Od začiatku 19. storočia sa v katastroch obcí vytvárali rómske osady. Ale na služby a pracovnú silu Rómov - okrem

**Integrácia Rómov
do spoločnosti
v 18. storočí**

**Obdobie
národného
obrodzenia**

hudobníkov – činila spoločnosť čím ďalej, tým menšie nároky, a možnosti na integráciu postupne zanikali. Napriek tomu, že v rokoch 1848-49 mnohí z nich si vydobyli uznanie ako vojaci alebo gardisti. V tomto storočí si Rómovia uvedomili prvýkrát od 15. storočia potrebu uznania ich národnej rovnoprávnosti, a preto sa obrátili so žiadosťou na cisára Františka Jozefa. On však ich žiadosť nechal bez odpovede.

V tých časoch neexistovala žiadna centrálna politika na riešenie rómskej problematiky. Prebiehali len akcie jednotlivcov. Napr. szatmársky biskup Hám János postavil pre nich školu, ktorú zveril do rúk františkánov. V Nových Zámkoch v roku 1856 postavil školu pre Rómov miestny pleban Farkai Ferdinánd.

Koncom 19. storočia boli znova zavedené nariadenia ktoré zakazovali putovný spôsob života (nariadenie Ministerstva vnútra z r. 1867). V posledných desaťročiach storočia arcivojvoda Jozef – ako to môžeme vidieť aj z jeho intenzívneho záujmu o rómsku problematiku (Habsburg, 1888, Nagy-Idai Sztojka 1886) - sa snažil umožniť usadenie Rómov pomocou významných obetí na svojich statkoch v Kisjenő a v Alcsúte, žiaľ neúspešne.

Po týchto snahách už nevznikali ďalšie spôsoby a možnosti integrácie Rómov. Módny cigánsky romantizmus konca 19. storočia (v literárnych, hudobných a výtvarných dielach Jókaiho, Liszta, Lenaua a mnohých ďalších umelcov) vykresľoval obraz túlavého Cigána, ktorému sa dá len závidieť jeho slobodu... Tento romantický náhľad nemal ďaleko nič spoločného so skutočnosťou.

Do 19. storočia vznikli mnohé predstavy spolužitia Rómov s nerómami. Tieto možnosti sa obnovili zase až v druhej

**Snahy
arcivojvodu
Jozefa**

**Romantizmus
konca
19. storočia**

polovici 20. storočia.

Keďže chudoba v období 1. svetovej vojny prinútila niektoré skupiny k opätovnému pohybu, vznikol opakujúci sa problém s kočovnými skupinami Rómov. Nezačlenenie sa do pracovného procesu, choroby, nemožnosť evidencie, úplná insolventnosť, kriminalita, choroby zvierat a ich prenášanie vyústili nanovo k odsúhlaseniu

zákona (č. 117/27 Z.z.) o potulných Cigánoch v júli roku 1927. Podľa tohoto zákona sa za potulných pokladali aj v tom prípade, ak mali po istú dobu roka, hlavne v zime trvalé bydlisko. Na povolenie ku kočovaniu nemal nárok nikto. Cudzozemským Rómom bol pobyt v republike zakázaný. V záujme ich alebo verejného zdravia mohli byť kedykoľvek podrobení lekárskej prehliadke (očkovaniu, dezinfekcii, ostrihaniu, izolácii). Boli zavedené aj rómske občianske preukazy. Každý Róm od 14-rokov obdržal "cigánsku" legitiáciu s rôznymi obmedzeniami príslušného úradu (Timelife of Romani History).

Ešte r. 1855 Gobineau uverejnil knihu *Essai sur l'inegalite des rasa humaines*, v ktorej argumentoval, že ľudské tvory patria do vyšších a nižších rás. Biele "Aryan" plemeno, a hlavne nordických ľudí hodnotil vyššie. Toto dielo

Obr. č. 20.:

Okrem cigánskeho romantizmu existoval aj iný literárny smer, ktorý spisovatelia prevzali z ľudovej tvorby, ako to znázorňuje aj úryvok z hrdinskej básne J. Aranya: A nagyidai cigányok. Prostý ľud vnímal Rómov (a tak ich aj zobrazoval) ako veľmi šikovných, prefikanych ľudí, ktorí vždy sú ochotní klamať vo svoj prospech, a ani chvíľku nezamýšľajú ak majú možnosť niekoho okabátiť.

Čimaza chytili pri krádeži koňa.
„Veru taká hanba, jak sa mi len stala?
Ponížene prosím, nekradol som – vraví.
Ležal v úzkej ceste, kadiaľto som chcel ísť –

Spredú idem: kuše; vzadu skúšam: kope;
Preskočiť ho ľahšie, veru aj rýchlejšie;
Vyskočím: vyskočí... dopadnem do sedla...
Nech vás Boh požehná, že chytili ste ma!“

**Medzivojnové
obdobie**

Gobineau

malo d'alekosiahajúci dopad na nemeckú filozofiu a politické zmýšľanie.

Hitler - už dávno pred prevzatím moci r. 1933 - napísal knihu *Mein Kampf*. V tomto zlopestnom diele okrem svojho životopisu uverejnil okolnosti vzniku a činnosť Nemeckej národnej socialistickej robotníckej strany. Vo svojich úvahách skonštatoval, že Nemci už nie sú čistokrvní, d'alej, že vplyv cudzích prvkov ich vystavuje nebezpečenstvám, na ktoré on musí poukázať, a varovať nemecký národ. Na riešenie týchto nebezpečenstiev sa neskôr vypracovali koncentrač-

Obr. č. 21.

Hitlerov Main Kampf

Nacistický teror

V januári r. 1933 Hitler bol zvolený za kancelára Tretej ríše, a 14. júla Hitlerov kabinet schválil zákon proti "životom nezaslúženým od života" (Lebensunwertes Leben), nazývaný Zákonom na prevenciu dedičných chorôb potomkov, ktorý nariadil sterilizáciu Rómov a „Nemcov čiernej farby“ nazývaných aj „Rhineland-kríženec“ zo zväzkov medzi Nemkami a Afričanmi. Postihovalo to aj Židov, a tiež invalidných, a iných takzvaných "asociálnych" ľudí (Timeline of Romani History).

Onedlho po prevzatí moci Hitlerom sa začalo rasové prenasledovanie. Kategória rasovo prenasledovaných sa delila na Židov a Cigánov, ale "úrad na rasovú ochranu" sa rozhodol dve rómske skupiny zachovať, pretože Himmler si myslel, že tie sú "čisté indogermánske typy". Od januára r. 1934 Rómovia, ktorí nepatrili do týchto dvoch skupín, boli deportovaní do táborov kvôli sterilizácii (sterilizácia injekciou alebo kastrácia). Takéto tábory boli vybudované v Dachau, Dieselstrasse, Sachsenhausene, Marzahne, Vennhausene a v Auschwitzi (Szőnyi, 1983).

Heinrich Himmler určil nemenné kritéria pre rasové a biologické ohodnotenie. Jedinec (Róm) bol genealogicky vyšetrený do hĺbky troch generácií (oproti dvom generáciám pre židovskú genealógiu).

Označenie pre Rómov začínalo od Z cez kategórie ZM+, ZM a ZM- až ku kategórii NZ. To znamená Z - *Zigeuner* - Cigán "s čisto cigánskou krvou"; ZM - *Zigeunermischling* - Cigán "miešanec" (označenie + alebo - ukazovalo, či je rómska krv dominantná alebo nie); NZ - *Nicht-Zigeuner* - je označenie pre "necigána" (Fraser, 1996).

Posudzovanie Rómov teda bolo prísnejšie aj od posudzovania Židov: ak človek mal dvoch prarodičov Rómov, tak už "mal v sebe príliš veľa Rómskej krvi". R. 1939 pracovník Úradu rasovej hygieny vydal správu, podľa ktorej "so všetkými Rómami treba zaobchádzať ako s dedične chorými. Odstránenie je jediným riešením." R. 1940 na 250 rómskych deťoch vyskúšali plyn Zyklon B, ktorý neskôr používali v plynových komorách. Na inej skupine experimentovali, ako dlho vydržia na slanej morskej vode (Guglielmo, 1992).

né tábory, kde väzni boli zaradení do niekoľkých skupín – z toho najdôležitejšie boli: politicky prenasledovaní, rasovo prenasledovaní, zločinci z povolania a ľudia mimo spoločnosti (ako podomoví kupci, prostitútky, a tuláci).

Zavedením rómskych občianskych preukazov masarykovou vládou aj u nás sa vytvorili výborné podmienky na dôsledné riešenie rómskej otázky. Po 1939 vláda druhej republiky vybudovala bez akéhokoľvek nátlaku zvonka pracovné tábory v Hanušovciach nad Topľou, neskôr i v Dubnici nad Váhom pre evidovaných Rómov ako pre "osoby práce sa štítiace". V nich potom česká polícia pod blahosklonným dohľadom nemeckej protektorátnej správy zhromaždila rómske obyvateľstvo a potom ich transportovali do Osvienčimu - na miesto nemeckého konečného riešenia. V roku 1944, po obsadení Slovenska nemeckou armádou a v súvislosti s porážkou SNP, došlo k masovým popravám Rómov a k vypáleniu mnohých rómskych osád. Nacisti tak

Obr. č. 22.

Rómsky holokaust - *Porraimos*

Prvý rómsky transport organizovaný RSHA (Hlavný ríšsky bezpečnostný úrad) došiel do Aushwitu 26. februára r. 1943, a potom rýchlo za sebou nasledovali aj ďalšie. Boli aj také transporty, ktoré sa hneď po príchode dostali rovno do plynových komôr, a to hlavne tie transporty, ktoré prichádzali z východných oblastí podozrivých na epidémiu (Szönyi, 1983).

16. decembra 1942 Himmler dal rozkaz na deportáciu Rómov, do Birkenau (Aushwitz II.) kde časť tábora premenili na rómsky láger. Táto časť tábora fungovala ako "rodinný tábor", čo znamenalo, že po príchode ich nezavraždili hneď, ale celé rodiny ponechali spolu, dokonca im povolili aj pôrody. Novorodencov a ich matky potom podrobili všelijakým pokusom. Podľa evidenčných kníh v tomto tábore trpelo 20 946 ľudí, pričom neevidovali tých, ktorých po príchode viedli rovno do plynových komôr (Szönyi, 1983).

Podľa správy Holandského štátneho dokumentačného ústavu medzi májom a júnom r. 1944 (čiže behom mesiaca) z Európy deportovali 21 000 Rómov.

Podľa odhadov, medzi r. 1933 a 1945 nacisti zabili 1 – 1,5 miliónov Rómov (Guglielmo, 1992).

Po II. svetovej vojne Rómovia – oproti Židom - nemali vlastnú organizáciu, ktorá mohla žiadať nápravu krívd a ukázať svetu, že čo sa vlastne udialo.

počas vojny vyvraždili údajne 90 % tunajších Rómov (Šídlo, 1998).

Po II. svetovej vojne už sa síce nikto nesnažil vyvraždiť Rómov, ale pôsobili na nich silné asimilačné tlaky.

V komunistických štátoch Európy – akým bolo aj Slovensko – sa snažili dokázať zaostalosť, podradnosť a neschopnosť rómskej kultúry, aby získali právo na zavedenie a praktizovanie asimilačnej politiky. Na dokazovanie tejto pravdy používali tvrdenia, ako napr.: Rómovia nemajú svoje vlastné územie, ich jazyk je len nárečím, ich ekonomická sila je marginálna, a že ich vedomie spolupatričnosti je minimálne (Guglielmo, 1992). R. 1958 v Československu, zákon č.74 zakázal kočovný spôsob života. Túto politiku sa snažili presadiť takým spôsobom, že policajti zabili všetky kone karavanov a odstránili kolesá z kočov. Kto sa ani takto nedal presvedčiť a pokračoval v kočovaní, hrozil mu trest odňatia slobody od šiestich mesiacov až do troch rokov.

Ďalším opatrením bola štátom podporovaná bytová politika, v rámci ktorej sa ponúkali byty Rómom medzi nerómami na novovybudovaných sídliskách, aby sa tak uľahčilo ich začlenenie do nerómskej spoločnosti. Ich dedinské sídliská postupne zanikali a pokračoval príliv do väčších miest a priemyselných oblastí (napriek tomu na slovenskom vidieku ostalo viac ako 60 % Rómov). Predstava o integrácii Rómov však v praxi nebola uskutočnená. Namiesto pokojného spolužitia sa vytvorilo nepriateľské prostredie, pretože príliš ľahko mohli získať byty. Podľa Miroslava Holometa (vedúceho Rómskej organizácie bývalého Československa) integrácia Rómov do nerómskej spoločnosti zlyhala preto, lebo ich tradičné práce a profesie sa nedajú, alebo veľmi ťažko sa

**Situácia
po II. sv. vojne**

Byty pre Rómov

**Snahy
integrácie Rómov
do socialistickej
spoločnosti**

dajú vykonávať v panelákovom byte – ako napr. remeslá kováčstva, prútikárstva, alebo zberača odpadkov a druhotných surovín. Ich príjem rapídne klesol, a nemohli platiť režijné náklady a nájomné za byty.

V 50. rokoch presunuli desaťtisíce Rómov zo Slovenska do Čiech. Naplnili nimi domy, ktoré ostali prázdne po vyhnaných Nemcoch zo sudetského pohraničia. Roku 1958 prijatím zákona o zákaze kočovania sa de facto úplne zničil prirodzený rómsky spôsob života. A keď sa napokon ukázalo, že usadené a “organizovane rozptýlené” rómske rodiny majú priveľa detí, nastúpil v 72. roku

program násilných sterilizácií. R. 1976 vo Východoslovenských novinách bol uverejnený úradný text vlády: plány na povinnú sterilizáciu Rómov, ako činu „socialistickej ľudskosti“...

Okrem toho komunistická vláda r.

1973 zakázala činnosť Rómskeho združenia v Československu na základe toho, že Rómovia nie sú uznávanou národnostnou menšinou a preto, že „nesplňajú svoje integračné úlohy“ (Timeline of Romani History).

Obr. č. 23.:



Predstava integrácie Rómov do socialistickej spoločnosti (Jamnická-Šmergllová, 1955)

Obr. č. 24.:

Aký bol v tej dobe postoj iných krajín k rómskej problematike?

INDIA

R. 1976 v Chandi-garhe v Indii sa konal prvý rómsky festival, na ktorom sa Indira Gandhi zaviazala pomôcť v realizácii snahy, aby Rómovia boli uznávaní ako národnostná menšina indického pôvodu.

USA

V USA zrušili posledný protirómsky zákon až r. 1998. Ako to píše The Patrin Web Journal (1999): R.1998 v Spojených štátoch amerických new-jerseyský guvernérka Christine Todd Whitman anulovala protirómsky zákon prijatý r. 1917. Svojím podpisom guvernérka zrušila posledný protirómsky zákon v USA.

Ale tejto toľko preklínanej vláde – zavedením povinnej školskej dochádzky - sa podarilo zlikvidovať analfabetizmus, a rozvíjaním zdravotnej a sociálnej siete Rómom ponúkla možnosť úplnej integrácie do spoločnosti.

STREDEŇA EURÓPY

Práve v tejto dobe, keď sa v Československu a v Maďarsku začala realizovať reforma školstva, v Rumunsku a v Bulharsku sa naopak začala realizovať reforma zdravotníctva. V Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva. V Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva.

Podľa údajov z roku 1989, ktoré sú uvedené v tabuľke, sa v Rumunsku a v Bulharsku začala realizovať reforma zdravotníctva. V Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva.

Podľa údajov z roku 1989, ktoré sú uvedené v tabuľke, sa v Rumunsku a v Bulharsku začala realizovať reforma zdravotníctva. V Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva.

Chceme vám povedať, že v Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva. V Rumunsku a v Bulharsku sa začala realizovať reforma zdravotníctva.

Kto oblohu pozerá v studni, len málo z nej uvidí. (rómske príslovie)

VZŤAH NERÓMOV K RÓMOM V STREDNEJ EURÓPE

Príčiny negatívneho vzťahu obyvateľov Slovenska k príslušníkom rómskeho etnika môžeme hľadať vo viacerých faktoroch. Sú to historické okolnosti ich príchodu a spôsobu pobytu na území už predtým obývanom, spôsoby ich začleňovania sa do hospodárskych a kultúrnych štruktúr našej spoločnosti (Bačová 1991), ale aj nepochopenie ich pohnútok a spôsobov správania sa.

Podľa štatistických údajov je 24,1 % rozumovo zaostávajúcich detí rómskeho pôvodu a navyše ich počet má stúpajúcu tendenciu. Je tu aj problém živelného zakladania rodín z neznalosti plánovaného rodičovstva. Už dvanásť až štrnásť-ročné dievčatá sa pokladajú za zrelé na manželstvo, a tým sa predĺži ich reprodukčný vek

o päť až šesť rokov. Časté sú manželstvá medzi príbuznými. Značná časť detí pochádza zo vzťahu medzi prvostupňovým, druhostupňovým bratrancom a sester-nicou, čo v malých izolátoch je samozrejým javom (Chlebovská a kol., 1998) ale

čo zvyšuje aj riziko geneticky prenosných dedičných chorôb. Spotreba alkoholu a cigariet počas tehotenstva je tiež podstatne vyššia ako priemer (Czeizel 1990, Pavúk, 2001, 2002).

**Pretrvávajúce
predsudky**

Obr. č. 25.: Jeden z pohľadov na smer vývoja rómskej spoločenskej štruktúry

„Tradiční Rómovia pokladajú vedcov za vyzvedačov, špiónov. Emancipovaní Rómovia ich zase obviňujú z rasizmu. – Boli by radšej, keby Rómov pokladali za 'zaostalých', ktorí raz budú schopní 'dohoniť' gadžov; oproti dnešnému poňatiu, podľa ktorého Rómovia stelesňujú istú 'odlišnosť', a preto ich cesty vedú nie po stopách gadžov, ale na paralelných koľajoch.“ (Piasere, 1997).

To všetko spoločne pôsobilo pri utváraní si obrazu a vzťahu obyvateľov k rómskym etnickým spoločenstvám. Pre našu úvahu je v tejto súvislosti dôležité to, že zo skupinového kontaktu Rómov a členov majoritnej spoločnosti sa postupne vyvinuli na oboch stranách pretrvávajúce etnické stereotypy a predsudky, ktoré v ďalšom vývoji vzťahov pôsobili proti prirodzenému a nenásilnému splynutiu Rómov s ostatnou spoločnosťou.

November 1989 znamenal pôvodne novú šancu pre Rómov a na demonštráciách sa aj objavovali rómski rečníci. Jeden z nich, J. Rusenko, v marci 1990

v rozhovore pre Respekt vyhlásil: "Rovnako ako vy, cítíme sa s touto krajinou spätí aj my. Chceme pre tento štát - a tým aj pre svoj ľud - to najlepšie." Predstavy však čoskoro nara-

Obr. č. 26.:

Paralely rasizmu

Začiatkom 60. rokov zavraždil Ku-klux-klan v štáte Mississippi dvoch bielych študentských aktivistov a ich čierneho priateľa, lebo na protest proti segregácii si v autobusoch niekoľkokrát spoločne sadli do oddelenia vyhradeného černochochom.

V roku 1968 v Memphise sa vydal na pochod za práva černošského ľudu atlantský rodák Martin Luther King. Na troskách jeho programu pre porozumenie a nenásilie naopak silnelo radikálne hnutie *Čierni panteri*. Ich nepriatelia boli nielen všetci belosi, ale aj tí čierni Američania, ktorí dokázali uspieť v "bielom" svete (Šídlo, 1998).

Pozitívna diskriminácia

Mocenské kruhy USA zareagovali na výbuch rasových vášní ojedinelým experimentom. Roku 1969 vyhlásil republikánsky prezident Nixon tzv. *Philadelphský plán* na vyrovnanie handicapov menšín. Amerika si uvedomila, že rasový problém sa nedá vyriešiť bez účasti tých, ktorých sa celá vec najviac týka. Aby však bola ich účasť možná, musí slabá a zanedbávaná menšina zosilnieť, musí mať vlastnú vzdelanú elitu. Na štátnych univerzitách mali preto zástupcovia menšín pevne vyhradené toľko študijných miest, koľko zodpovedalo percentuálnemu zloženiu obyvateľstva v príslušnom kraji. Takto vznikol termín pozitívnej diskriminácie (affirmative action). Ale na rozdiel od Európskej situácie černosi mali záujem o ďalšie vzdelávanie – veď aj pred týmito zmenami mali vlastné „černošské“ univerzity. A aj zo strany bieleho obyvateľstva sa prejavovala reálna potreba zblíženia. Svedčia o tom aj ohlasy na film *Hádaj, kto príde na večeru*, v ktorej mladá žena napriek protestom svojho okolia sa vydáva za úspešného čierneho lekára. V našej spoločnosti je táto potreba zatiaľ málo badateľná.

zili na tvrdú realitu. Ukázalo sa, že priemerný občan nepokladá Rómov za plnoprávných členov tejto spoločnosti a o ich príspevok pri hľadaní "toho najlepšieho" vôbec nestojí. Toto napätie v spoločnosti „spôsobuje štatisticky významný počet Rómov, ktorých správanie pokladá väčšina za parazitické" (povedal bývalý minister pre menšiny Pavel Bratinka) (Šídlo, 1998).

Väčšina predstaviteľov úzkej rómskej elity však zatiaľ na otázku, či si možno predstaviť horiace stredoeurópske mestá alebo tuzemskú obdobu "čiernych panterov", odpovedá záporne. Zároveň do budúcnosti nevylučujú ani iný scenár. "Nik z našej generácie tu už nebude", - hovorí aktivista Ivan Veselý - "ale isté je, že sa tu onedlho nejaký Luther King objaví (Šídlo, 1998).

Politický prevrat v novembri 1989 vyvolal významné zmeny v štruktúre celej spoločnosti. Tieto zmeny sa dotkli i Rómov: Zástupcovia prvej rómskej politickej strany (Rómska občianska iniciatíva) vo voľbách v júni 1990 sa stali poslancami parlamentu. Postupne vzniklo viacero ďalších politických subjektov a kultúrnych zväzov. Rómovia dostali možnosť pracovať na Úrade vlády SR, na ministerstve školstva a ministerstve kultúry. Rómovia dnes majú splnomocnenca vlády SR pre rómske komunity, ktoré miesto od r. 2001 zastáva Klára Orgovánová.

Významným medzníkom v novodobých dejinách Rómov na Slovensku sú Zásady vládnej politiky SR k Rómom, ktoré boli schválené uznesením vlády SR č. 153. 9. apríla 1991. po prvý raz v dejinách bola Rómom priznaná etnická svojbytnosť na úrovni ostatných etnických minorít žijúcich na území Slovenskej republiky, t.j. boli v súčasnej terminológii uznaní za

Zmeny po r. 1989

Priznanie etnickej svojbytnosti Rómov

národnosť. Rómovia si pri sčítaní ľudu v roku 1991 mohli zapísať rómsku národnosť. Jazykovedný ústav L. Štúra SAV uviedol do slovných zásoby spisovného jazyka slová – Róm, Rómovia, rómsky (Mann, 1995). Listina základných práv a slobôd im garantuje „právo na výchovu a vzdelávanie, tlač a informácie vo svojom (rómskom) jazyku (podľa Z. č. 184/1999 o používaní jazykov národnostných menšín v obciach, v ktorých tvoria viac ako 20 % obyvateľstva), právo využívania svojho jazyka v úradnom styku, právo na rozvoj vlastnej rómskej kultúry, právo združovať sa v etnických združeniach a právo účasti na riešení otázok týkajúcich sa Rómov“. Na druhej strane v oblasti sociálnej sa prijal princíp „nevydeľovať osobitnú, zvláštnu sociálnu starostlivosť smerujúcu len k Rómom, lebo vyделение osobitných štátnych finančných fon-

Obr. č. 27.: (LaDonna Harris, 1998)

Negatívny vplyv diskriminácie

„Diskriminácia poškodzuje toho, kto je diskriminovaný, pretože mu neumožňuje byť tým, čím je, neumožňuje mu plne využiť svoj potenciál. Diskrimináciou stráca aj ten, kto diskriminuje – stráca tým časť svojej ľudskosti, a ochudobňuje aj svoje okolie... Myslím si, že stratiť nejakú pospolitosť, nejakú kultúru a nejaký jazyk je ako stratiť poklad...“

Obr. č. 28.: (LaDonna Harris, 1998)

Cesta vedúca ku zmene postavenia Indiánov v Amerike

LaDonna Harris bola vychovávaná počas veľkej hospodárskej krízy v USA na farme v indiánskom štáte Oklahoma prarodičmi z matkinej strany. Jej praded bol šaman a prababička bola zbožná kresťanka. LaDonna rozprávala len jazykom kmeňa Komančov keď nastúpila do prvej triedy základnej školy. Dnes je zakladateľkou niekoľkých popredných organizácií amerických Indiánov (The National Indian Housing Council, The Council of Energy Resource Tribes, The National Tribal Environmental Council a The National Indian Business) a vytvorila prvú Indiánmi vlastnenú a riadenú telekomunikačnú sieť – IndianNet – ktorá sa venuje rozvoji voľného verejného prístupu k elektronickým informačným službám pre domorodých Američanov.

„V Spojených štátoch dnes máme 552 rozdielnych kultúrnych entít. Je tu veľká renesancia zachovávaní jazyka a tanca. Ožívujú sa zvyky a verejnosť to stále viac oceňuje. Dnes je na to stavaný celý priemysel. Do štátov, kde žije veľké množstvo Indiánov prichádzajú turisti poznávať ich kultúru. Štáty, ktoré nás ako súčasť hospodárskeho rastu predtým nevideli radi, museli svoj postoj zmeniť.“

dov pre Rómov by znamenalo zvýhodnenie istej skupiny na úkor ostatných“ Uvedené zásady boli rozpracované v jednotlivých rezortoch do podrobných programov.

Zásady politiky vlády k Rómom v oblasti kultúry umožnili vyčleniť finančné prostriedky podporujúce činnosť rómskych kultúrnych zväzkov, folklórnych súborov, financovania rómskej periodickej i neperiodickej tlače, pravidelného rómskeho rozhlasového vysielania i televíznej relácie Romale, založenie a prevádzku profesionálneho divadla Romathan (Mann, 1995); vznik informačného a dokumentačného centra Inforoma v Bratislave a Rožňave založenie Nadácie pre ochranu a rozvoj tradičných rómskych remesiel.

K najvýznamnejším výsledkom v oblasti školstva patrí predovšetkým zriadenie Katedry rómskej kultúry v Nitre, zriadenie Ústavu národnostných menšín a cudzích jazykov na Prešovskej univerzite v Prešove, založenie a pôsobenie Klubu učiteľov rómskych žiakov v Košiciach, hľadanie netradičných foriem motivácie pri výučbe rómskych žiakov, vy-

Kultúrny rozvoj

Obr. č. 29.: (LaDonna Harris, 1998)

Príhoda „niekdajšieho Cigána“

(zbierané na Gemeri)

Nasledujúca príhoda – aké dodnes počuť od starých ľudí na dedinách – chváli prešibané myslenie „niekdajšieho Cigána“:

„Raz kedysi dávno, bola krátka jeseň, prišli skoré mrazy, a ľudia ešte nestihli všetko pozvážať z poľa... Gazdovia ostali na poli so svojimi nádenníkmi, aby pozbierali úrodu. Po práci potom do neskorej večere sedeli pri ohni, ženy spievali, muži opekali slaninu. Túlili sa k ohňu aby sa zohriali. Gazda videl, že Cigán sedí bokom. – Iste je hladný a musí mu byť zima... Gazda bol spokojný – dnes vykonali dobrý kus práce – mal dobrú náladu, tak chcel popriať trochu dobra aj Cigánovi. Ale nie veľa, a nech to nie je úplne zadarmo, nech majú aj ostatní zábavu. Preto sa ho spýtal – No čo chceš, Cigán, zohriať sa, alebo sa najesť? Ale veru ten sa nedostal do rozpakov, ani chvíľku nerozmýšľal, hneď povedal, že by chcel slaninu opekať!

Poučením tejto príhody je, že ten kto je chytrý, využije každú príležitosť a možnosť na 100 percent, ako ten Cigán, ktorý sa najedol, a pritom sa aj zohrial... lebo mu ten gazda s uznaním povolil obe.“

A podľa tejto zásady sa Rómovia správajú dodnes.

pracovanie a experimentálne skúšanie tzv. nultého ročníka pre rómske deti a detí z málo podnetného sociálneho prostredia. Úspechmi sú aj vydanie Rómskeho šlabikára (Romano hangoro) a Čítanky (Genibarica) (Mann, 1995). Tiež existuje množstvo príručiek a slovníkov rómčiny, niektoré z nich uvádzam v kapitole Romologické štúdie.

EXODUS RÓMOV

Exodus počas dejín bol a aj dnes je trvalým znakom Rómov. V roku 1997 v Českej republike prebehol exodus Rómov. Cieľovou krajinou boli predovšetkým Kanada a v menšej miere Veľká Británia. V r. 1999 podobný exodus prebehol aj v Maďarsku a aj u nás na Slovensku so zameraním na Veľkú Britániu, Belgicko a Fínsko. Vtedy v mnohých novinách a časopisoch sa kladla otázka, či exodus Rómov vyprovokovala skutočná diskriminácia?

Na základe údajov z tabuľky (Obr. č. 31.) vyplýva, že západné krajiny v skutočnosti nezaplavili imigranti zo spomínaných

Obr. č. 30.:

Bol exodus Rómov spôsobený diskrimináciou?

Jozef Klíma – reportér a žurnalista, ktorý v médiách bol obvinený z toho, že jednou svojou reportážou vyprovokoval exodus Rómov – sa o tom vyjadroval nasledovne (Klíma, 1997):

“Začal som sa rómskou otázkou zaoberať už pred 22 rokmi, prešiel som postupne všetkými obdobiami – od čisto romantického vzťahu, kedy som sa učil po rómsky a zbieral som rómske piesne a mal som Rómov rád, až po film ‘Nahota na predaj’, kedy som bol rozčarovaný z toho, že koľko zla páchajú a mal som voči nim averziu. Dnes úprimne priznávam, že neviem, či sú u nás diskriminovaní. Presnejšie neviem, ktorí z nich sú naozaj diskriminovaní, a ktorí to len tvrdia. Rodiny, ktoré programovo žijú z podpor a pritom si pre ňu jazdia na mercedesoch, asi nie sú veľmi diskriminované. A ani tí, čo ‘vybývajú’, zničia byty a potom žiadajú nové. A takisto poznám sedem bratov Ferencových z Karvinej, /.../ ktorí poctivo podnikajú, sú bez trestného záznamu a majú svoje vlastné rodiny. Lenže ako sa môžu cítiť, keď ich odmietnu vpustiť do reštaurácie, napriek tomu, že sami v Karvinej dve reštaurácie vlastnia? Ako mi povedal jeden z nich: *‘Nejdříve se vám zatmí před očima, nejradši byste se rozčílil, ale pak si řeknete: To jim jen potvrdím, že s Romy jsou problémy... Tak to ponížení spolknou a jdu pryč. Jak je dalším stovkám Romů, kteří žijí jako my – a přitom jejich děti ohrožují skinové? Ti se zcela nepochybně v tomto státě diskriminováni cítí...’* /

Obr. č. 31.: S – Slovensko, Č – Čechy, M – Maďarsko

Štát	Imigranti				Emigranti				Migračný rozdiel			
	v roku 1999											
	S	Č	M	Spolu	S	Č	M	Spolu	S	Č	M	Spolu
Belgicko	81	94	229	404	23	39	72	134	52	23	104	179
Fínsko	16	19	119	154	2	7	22	31	14	12	97	123

štátov – ako sa o tom písalo v dennej tlači. Zabránili tomu odmietnuté žiadosti o azyl a vízová povinnosť, ktorú voči nám zaviedli niektoré západné krajiny, ako aj hrozba možného negatívneho posúdenia bývalých socialistických štátov zo strany Európskej únie. No a samozrejme aj konečný počet opovážlivých Rómov, alebo poznanie, že život je aj vo vyspelých krajinách tvrdý, keďže nemajú primerané vzdelanie, ani vžitie pracovné návyky.

Americká mierová misia (U. S. Peace Corps) r. 1992 realizovala prieskum na území Maďarska ohľadom diskriminácie Rómov. Otázky dotazníka sa týkali domova, práce, rodiny, školy, zdravotníctva a rómskej kultúry. Súčasne robili aj prieskum nerómskej populácie. Podľa ich zistenia len malá časť opýtaných nerómov sa zdržala ohováračských výrokov na konto Rómov. A Rómovia vyjadrovali síce pocit, že sa s nimi opovrhuje, ale ranilo to skôr len ich pýchu. Ako to zistila K. Verdi (Guglielmo, 1992): “Všetky rodiny, s ktorými som sa rozprávala sa vyjadrili, že nie sú diskriminovaní zo strany nerómov.” A jeden rómsky respondent sa vyjadril nasledovne: “Je viac konfliktov medzi Rómami, ako medzi Rómami a nerómami.”

Ďalším zistením Americkej mierovej misie bola skutočnosť, že Rómska otázka preto nie je ešte doriešená, lebo Rómovia sa nepovažujú za jednotný národ. No napriek tomu

**Sú Rómovia
diskriminovaní?**

**Vystupovať
jednotne**

nerómska väčšina nevidí rozdiel medzi jednotlivými rómskymi skupinami. Rómovia majú pocit, že ich okrem chudoby nič iné naspája a na toto diferencované rozlišovanie odpovedajú tiež osobitne a rôznym spôsobom. "Dovtedy nepostúpime v riešení tejto otázky, kým Rómovia nezačnú vystupovať organizovane voči prípadnej diskriminácii, ktorá ich postihuje ako skupinu." (Guglielmo, 1992).

ZMENY POČTOV RÓMOV V PRIEBEHU 20. STOROČIA

Napriek tomu, že Rómovia žijú v Európe už asi 700 rokov, údaje o ich počte z minulých storočí sú neúplné. Dáta jednotlivých autorov sa veľmi odlišujú, pretože sa jedná väčšinou o odhady. Encyklopédia Slovenska (1977) napr. uvádza pre r. 1893 na území Slovenska asi 36.000 Rómov, z toho 600 kočovných a 2000 polokočovných.

Údaje o ich počtoch v jednotlivých krajinách v období medzi 19. a 20. storočím prináša Encyklopédia Britannica (1910), podľa ktorej na území Čiech a Moravy žilo 13.000 Rómov, kým na území Uhorska ich žilo 270.000. Celkový počet Rómov v Európe bol 853.000.

K rómskemu etniku sa v roku 1910 v Československu prihlásilo asi 10.000 osôb, o desať rokov neskôr už viac ako 30.000, avšak demografi a zákonodarcovia boli presvedčení, že skutočný počet Rómov bol asi dvojnásobný (Dokládala, 1992).

Vojnové obdobie ťažko postihlo Rómske spoločenstvo. Mroz (1966) uvádza, že v nacistických táboroch zahynulo asi 400 tisíc Rómov, kým Guglielmo (1992) hovorí o 1-1,5 miliónových počtoch.

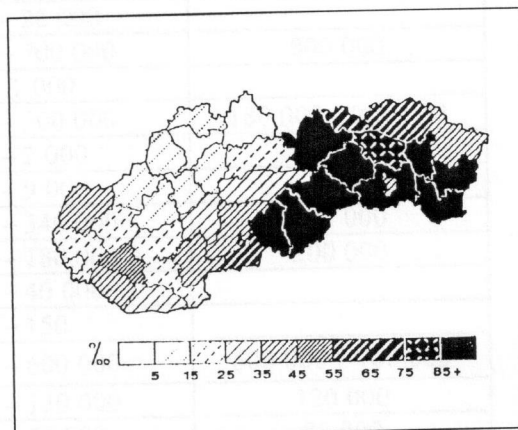
Štatistické údaje

Povoynové komunistické štáty v Rómoch videli možné strediská odporu. Preto ich počty boli zmenšované v štatistikách, čo dnes veľmi sťažuje pokusy na odhadnutie ich skutočných počtov (Michalec, 1997).

Krátko po druhej svetovej vojne v období poslednej migrácie prichádzali na územie Českej a Slovenskej republiky Rómovia cez Maďarsko z Rumunska.

R. 1980 pri sčítaní ľudu sa zistilo, že v Československu žije 203.405 Rómov, ale na základe evidencie národných výborov v rámci sociálnej starostlivosti o rómske obyvateľstvo ich bolo 310.598.

Obr. č. 32.:



Hustota rómskej populácie na Slovensku (podľa Dokládala 1992)

Počty Rómov na Slovensku							
1970 ^o	1975 ^o	1980 ^o	1985 ^o	1989 ⁺	1991 ²	1993 [*]	1995 ¹
159 275	184 552	203 405	229 782	253 943	75 802	480 000 – 520 000	400 000 – 500 000

Obr. č. 33.:

^{*} údaje uvedené Radou Európy (Council of Europe) za rok 1993 (Davidová, 1995)

⁺ údaje podľa rezortnej správy Ministerstva práce a sociálnych vecí SR za rok 1989 (Davidová, 1995)

^o (Davidová, 1995)

¹ odhady z r. 1995 (Holomek, 1999)

² sčítanie ľudu r. 1991 (Podolák, 1998)

Ich dnešný počet na Slovensku odhaduje K. Orgovánová (1999) vo svojom článku v The Patrín Web Journal na 350.000 až 400.000.

V rámci sčítania ľudu v rokoch 1970 a 1980 prebehlo zisťovanie o počtoch rómskeho obyvateľstva. Základným kritériom pre vymedzenie etnickej príslušnosti Rómov v týchto sčítaniach bola materinská reč. Ďalej sa posudzoval spôsob života a v neposlednom rade fyzické znaky tohto obyvateľ-

Počty Rómov v Európe		
Štát	1993*	1995 ¹
Albánsko	80 000 – 100 000	80 000
Belgicko	15 000 – 20 000	
Bulharsko	600 000 – 700 000	800 000
Cyprus	500 – 1 000	
Česká republika	250 000 – 300 000	180 000 – 200 000
Dánsko	1 500 – 2 000	
Fínsko	7 000 – 9 000	
Francúzsko	280 000 – 340 000	400 000
Grécko	120 000 – 180 000	200 000
Holandsko	35 000 – 40 000	
Luxemburg	100 – 150	
Maďarsko	550 000 – 600 000	600 000 – 700 000
Nemecko	110 000 – 130 000	120 000
Poľsko	50 000 – 60 000	80 000
Portugalsko	40 000 – 50 000	
Rakúsko	20 000 – 25 000	70 000
Rumunsko	1 800 000 – 2 500 000	2 500 000
Slovenská republika	480 000 – 520 000	400 000 – 500 000
Španielsko	600 000 – 750 000	600 000
Štáty bývalej Juhoslávie	Bosna - Hercegovina	1 100 000
	Chorvátsko	
	Macedónsko	
	Slovinsko	
	Srbsko – Crna Gora	
Štáty bývalého ZSSR	Estónsko	600 000
	Litva	
	Lotyšsko	
	Spoločenstvo nezávislých štátov (Rusko, Ukrajina, atď.)	
	Nórsko	20 000
	Švédsko	
	Švajčiarsko	
	Taliansko	110 000
	Turecko	600 000
	Írsko	130 000
	Veľká Británia	
	Spolu v Európe:	6 700 000 – 8 000 000

Obr. č. 34.: * údaje uvedené Radou Európy (Council of Europe) za rok 1993 (Davidová, 1995)
¹ odhady z r. 1995 (Holomek, K., 1999)

stva. Sčítanie vykonali sčítací komisári určení národnými výbormi, ktorí ako orientačnú pomôcku využili aj evidencie

štátnej správy pre prideľovanie sociálnych dávok. Z demografického hľadiska je možné tieto výsledky považovať za dostatočne spoľahlivé a nemennosť kritérií pri oboch zisťovaniach umožňuje sformulovať aj určité porovnania demografického vývoja (Kalibová, 1993).

Nešlo teda o deklarovanie príslušnosti k rómskej etnickej skupine, ale o označenie určitých osôb za Rómov, a to v mnohých prípadoch i bez ich vedomia. Pri sčítaní ľudu v r. 1991 bolo Rómom po prvý raz od konca druhej svetovej vojny umožnené deklarovať rómsku národnosť. Túto možnosť však využila len časť Ró-

mov a z pohľadu skutočnej početnej veľkosti rómskej populácie sa preto musí 75 800 „sčítaných“ Rómov považovať za neúplný súbor. Dôvody na určité zlyhanie tak Rómov, ako aj oficiálnej štatistiky v r. 1991 sú rôzne. K najčastejším príčinám patria obavy z prenasledovania. Kvôli nim sa Rómovia hlásia k národnosti väčšinového obyvateľstva (slovenskej a českej) alebo z tradície k maďarskej národnosti. Okrem toho Ró-

movia často nechápu presný význam pojmu národnosť a stotožňujú ho so štátnou príslušnosťou, zo skúsenosti z minulosti sa bránia akejkolvek evidencii, a veľká časť

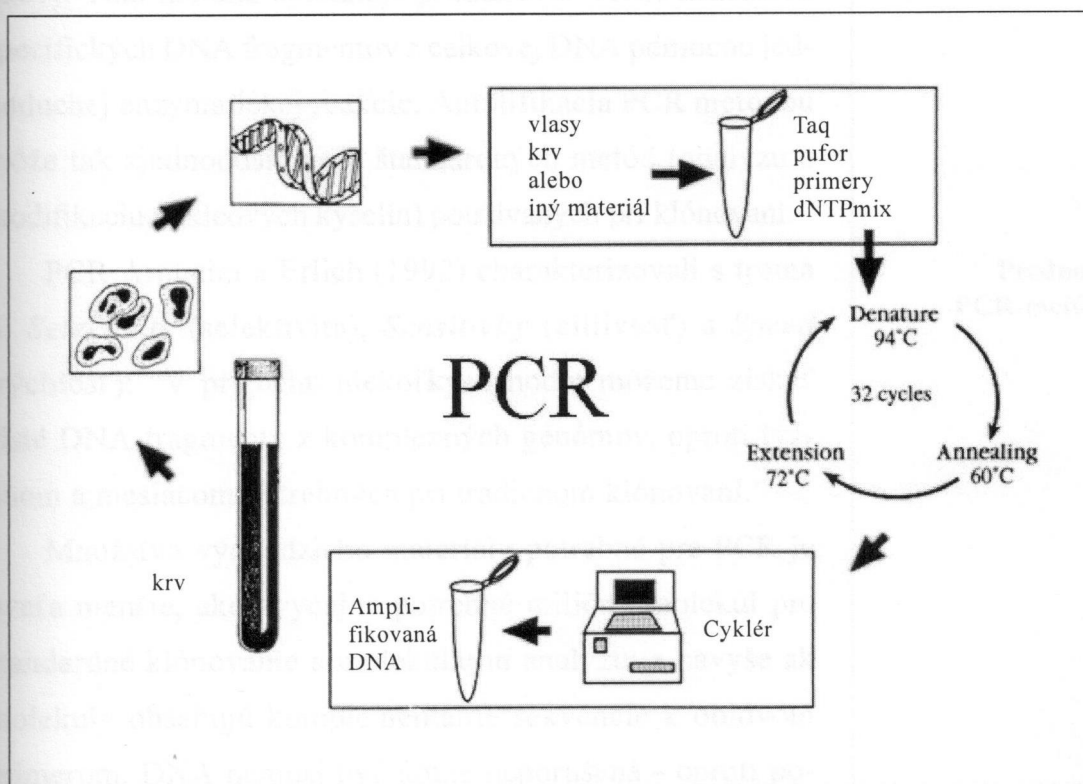
Obr. č. 35.:

Tendencia Rómov deklarovať sa pri slobodnom rozhodovaní za Slovákov (resp. Maďarov na juhu Slovenska) má dlhú tradíciu. Dôvod takéhoto správania je veľmi jednoduchý – v prvej polovici 20. storočia sa Rómovia obávali etnickej diskriminácie. V druhej polovici 20. storočia sa vládna koncepcia riešenia „cigánskej otázky“ obyčajne zmenila zo spôsobu sociálnej integrácie Rómov na nenásilnú asimiláciu rómskeho etnika. Z takto podmienenej obavy Rómov deklarovať svoju vlastnú etnickú identitu sa aj v časových radoch o základnom údaji – počet obyvateľov – vyskytujú skutočne vysoké disproporcie. Pri sčítaní v roku 1950 nebola rómska národnosť definovaná a poskytnutá ako možnosť pri výbere národnosti, takže v tomto sčítaní a rovnako aj v nasledujúcich (až do r. 1980) sa Rómovia registrovali obyčajne ako príslušníci tej národnosti, ktorá prevládala v prostredí, v ktorom žili (Podolák, 1998).

z nich sa jednoducho prikláňa k národnosti, ktorá prevažuje v ich okolí (Podolák, 1998).

V sedemdesiatych rokoch sa celkový počet Rómov vo svete odhadoval na 10 miliónov, z čoho v Eu-rópe na 4 až 5 miliónov (McDowell, 1970). Podľa rozličných štatistík v súčasnosti ich žije vo svete okolo 12 miliónov, z toho až 8 miliónov v Európe. Predpokladá sa však, že skutočný počet Rómov vo svete je v skutočnosti vyšší. Veľká časť Rómov totiž aj v iných štátoch Európy z obavy z nevýhodného postavenia sa k svojej národnosti nehlási.

ŠTÚDIUM MATERIÁLU PCR METÓDOU



*“Myslíte na silu človeka:
nerodili ste sa hlivieť ako zvierá,
ba ale objavovať a napredovať.”*

(Dante: Božská komédia, Peklo, XXVI: 118)

ÚVOD DO PROBLEMATIKY PCR METÓDY

Približne pred tridsiatimi rokmi bola zavedená technológia rekombinantnej DNA, ktorá sa zakladala na replikácii plazmidovej DNA počas delenia buniek mikroorganizmov.

R. 1984 však skupina vedcov v Cetus vyvinula metódu amplifikácie DNA – čo je oproti rekombinantnej technológii in vitro proces – a je známa ako polymerázová reťazová reakcia (PCR – metóda) (Saiki a kol. 1985, 1988, Mullis a kol. 1987). Táto metóda umožňuje produkovať veľké množstvo špecifických DNA fragmentov z celkovej DNA pomocou jednoduchej enzymatickej reakcie. Amplifikácia PCR metódou môže tak zjednodušiť veľa štandardných metód (analýzu a modifikáciu nukleových kyselín) používaných pri klónovaní.

PCR Arnheim a Erlich (1992) charakterizovali s tromi S: *Selectivity* (selektivita), *Sensitivity* (citlivosť) a *Speed* (rýchlosť): “V priebehu niekoľkých hodín môžeme získať čisté DNA fragmenty z komplexných genómov, oproti týždňom a mesiacom potrebných pri tradičnom klónovaní.”

Množstvo východzieho materiálu potrebné pre PCR je oveľa menšie, ako zvyčajne potrebné milióny molekúl pre štandardné klónovanie a molekulárnu analýzu; a navyše ak molekuly obsahujú komplementárne sekvencie k obidvom primerom, DNA nemusí byť úplne neporušená - oproti požiadavkám iných štandardných molekulárnych metód.

Vyvinutím metódy nazývanej polymerázová reťazová reakcia (Polymerase Chain Reaction – PCR) sa značne zjedno-

**Rekombinantná
DNA**

PCR-metóda

**Prednosti
PCR-metódy**

dušila a urýchlila analýza nukleových kyselín. PCR sa preto všeobecne pokladá za najvýznamnejšiu a najperspektívnejšiu genetickú metódu súčasnosti.

HISTÓRIA PCR-METÓDY

Traduje sa, že v apríli r. 1983 Kary B. Mullis (vo firme CETUS sa venoval syntéze oligonukleotidov) zmenil molekulárnu biológiu behom jazdy autom po diaľnici v kalifornských horách. Behom tejto jazdy totiž vymyslel princíp PCR.

Dnes už je to zaužívaná metóda. Venuje sa jej veľké množstvo publikácií hlavne v anglickom jazyku (Innis a kol. 1990, McPerson a kol. 1992, Dieffenbach a kol. 1995, Erlich 1998) a venujú sa tejto problematike aj známe časopisy ako *PCR Methods and Applications* od r. 1991 do 1996, od r. 1996 časopis *Genom Research*, alebo aj *Biotechniques*.

Kary B. Mullis bol r. 1993 ocenený Nobelovou cenou z chémie za PCR. Ale na prvenstvo vynálezu je viacero kandidátov: ďalší vedci, ako *Henry Erlich, Norman Arnheim, Randall Saiki, Glen Horn, Corey Levenson, Steven Scharf, Fred Faloon* a *Tom White* tiež prispeli k tvorbe PCR-metódy, pretože PCR vlastne neexistovala až kým sa nevyskúšala – kým sa nezaviedla do praxe. „Až keď bol vyvinutý aj experimentálny systém, sa stala PCR-metóda exaktnou metódou. Iba vymyslieť ideu nestačí. Prírodovedecký postup musí zahŕňať tvorbu nápadov ale aj ukázať cestu úspešnej realizácie.“ Píše Rabinov (1998).

Keď v *Science* menovali DNA-polymerázu za víťaznú „Molekulu roka 1989“, redaktor Daniel Koshland Jr. stručne popísal PCR metódu.

Do správy Koshland napísal podľa archívu Smithsonianovho ústavu Biotechnológie aj to, že Kary B. Mullis nedefino-

K. B. Mullis

**Nobelova cena
za PCR**

Spolutvorcovia

**Koshlandova
správa**

val PCR ako špeciálnu *techniku* ani okruh techník, ale skôr ako *koncept*.

A napriek tomu pre Mullisa PCR vznikol v momente, keď ho vymyslel. Pre neho prinútiť predstavu aby pracovala, malo druhoradý význam.

Hoci Mullis stále tvrdí že PCR vznikla ako riešenie na dlhodobu existujúci problém, nikdy sa však nevyjadril presnejšie, že aký to bol problém (Obr. č. 38.). Iný vedec z Cetus, Stephen Scharf, je presnejší, keď hovorí, že skutočne prekvapujúce v PCR je presne to, že *nebolo* naprojektované na riešenie určitého problému. Odrazu len existovalo, a problémy pri ktorých

môže byť použitý, sa začali vynárať až potom (Rabinov 1998).

Najcennejšou vlastnosťou PCR-techniky je nepochybene jeho mimoriadna *univerzálnosť*. Tá univerzálnosť je viac než jeho "použitelnosť" v mnohých odlišných situáciách. PCR je nástroj, ktorý ohromil vedcov a preto produkovali nové súvislosti a nové možnosti využitia.

Hlavné výhody PCR, krátka realizačná doba, relatívne nízka cena, obvykle malá náročnosť na množstvo a kvalitu východzieho materiálu a jednoduchý princíp umožňujúci plnú

Obr. č. 37.:

Koshlandova prvá správa o PCR-metóde

„Štartovacia látka (cieľová sekvencia) pre PCR-reakciu je gén alebo časť DNA molekuly. Za hodinu táto cieľová sekvencia môže byť amplifikovaná miliónkrát. Komplementárne reťazce dvojvláknovej DNA molekuly sú oddelené od seba ohrievaním. Dve malé kúsky syntetickej DNA, každá komplementárna na špecifickú sekvenciu na jednom konci cieľovej sekvencie, slúžia ako primery. Každý primer sa naviaže na svoju komplementárnu sekvenciu. Polymeráza začne od oboch primerov kopírovať sekvenciu vlákna DNA. Za krátku dobu je vytvorená presná kópia cieľovej sekvencie. V ďalšom cykle, dvojvláknové molekuly oboch pôvodných DNA a kópie sú oddelené od seba, primer sa zase naviaže na komplementárne sekvencie a polymeráza ho replikuje. Na konci mnohých cyklov súbor je obohatený o malé kúsky DNA ktoré majú cieľovú sekvenciu a táto amplifikovaná genetická informácia je potom k dispozícii pre ďalšiu analýzu.”

automatizáciu, sú príčinou búrlivého rozvoja tejto metódy. Princíp metódy bol popísaný v roku 1985 Saikim a kol. a v roku 1986 Mullisom a kol. Až použitie termostabilnej *Taq* polymerázy v roku 1988 (Saiki a kol.) ju však postupne prístupnilo širokému okruhu laboratórií a umožnilo takmer univerzálne použitie tejto metódy v mole- kulárnej genetike.

Od prvej správy r. 1985 (Saiki a kol.) boli publikované tisícky vedeckých článkov, ktoré sa venujú možnostiam využitia PCR- metódy, a články, ktoré publikujú výsledky získané pomocou nej. Toto veľké množstvo publikácií samozrejme robí nemožným preštudovať všetky. Bibliografia vydaná pred štrnástimi rokmi obsahuje 394 kníh a štúdií súvisiacich s technikou PCR (Perkin Elmer Cetus, 1989).

Obr. č. 38.: (Rabinov, 1998)

K. B. Mullis sa vyjadruje o svojom objave

“To, čo bolo ‘Aha!’ a ‘Eureka!’ ohľadom PCR sa netýkalo len spájania týchto vecí. ...pozoruhodné je to, že vyberiete malú časť DNA z jej kontextu, a túto časť dostanete amplifikovanú. To ma viedlo k tomu, že som si povedal: ‘Môj Bože, veď to môžeš použiť na izoláciu fragmentu DNA bez komplexnej DNA.’ To bolo to, čo považujem za geniálne. [...] ...ja som vlastne spojil časti, ktoré tam už boli. [...] Zvyčajne nie je možné vytvoriť nové časti. Ak išlo o novú časť, to bola kombinácia, spôsob, akým boli použité. [...] To, že som to urobil znova a znova, a že som to robil stále tým istým spôsobom, to bol objav... Správna formulácia je: ‘prináša nečakané riešenie dlhodobého problému’, to je objav a ním jasne bola PCR.”

V pôvodnom znení:

“The thing that was the ‘Aha!’ the ‘Eureka!’ thing about PCR wasn’t just putting those [things] together ...the remarkable part is that you will pull out a little piece of DNA from its context, and that’s what you will get amplified. That was the thing that said, ‘My God, you could use this to isolate a fragment of DNA from a complex piece of DNA, from its context. That was what I think of as the genius thing.[...]..In a sense, I put together elements that were already there. [...] You can’t make up new elements, usually. The new element, if any, it was the combination, the way they were used. ... The fact that I would do it over and over again, and the fact that I would do it in just the way I did, that made it an invention...the legal wording is ‘presents an unanticipated solution to a long-standing problem,’ that’s an invention and that was clearly PCR.”

VYUŽITIE PCR

Rýchlosť, špecifita a citlivosť PCR – metódy v spojitosti s jednoduchosťou použitia a univerzálnosťou ho robia ideálnym na riešenie problémov ako vo výskume, tak aj v praktickej medicíne. Zmienim sa stručne len o niektorých oblastiach jeho použitia:

Vo výskume sa PCR používa pri analýze doposiaľ neznámych úsekov DNA, pri hľadaní a sledovaní genetických polymorfizmov. PCR možno s drobnými úpravami použiť i na sekvenovanie DNA, či na stanovenie množstva RNA v rôznych tkanivách. Aplikácia tejto metódy umožňuje aj retrospektívne lekárske štúdium DNA z patologických vzoriek, ktoré boli skladované desiatky rokov fixované vo formalíne, zabalené v parafíne a aj analýzu DNA z tkanív vymretých rastlín alebo živočíchov (Arnheim a Erlich, 1992). Tiež táto metóda sa používa na konštrukciu genetických máp (Yamakawa a kol. 1991).

PCR nachádza využitie aj v oblasti prenatalnej diagnostiky, kde sú vyvinuté metódy pre detekciu fenylketonúrie, cystickej fibrózy, Duchenneovej svalovej dystrofie a mnohých iných dedičných ochorení. Najpoužívanejšou metódou je metóda pre určenie pohlavia nenarodeného fétu amplifikáciou špecifickej časti Y chromozómu. Ale táto metóda sa používa aj na potvrdenie rozličných dedičných porúch v dospelom veku (Fuentes a kol. 1999, Izumi a kol. 1999, Okuhara a kol. 1999). PCR umožňuje sledovať aj mutácie vedúce k familiárnej hypercholesterolémii (LDL receptor), familiárnej dysbetalipoproteinémii, atď. (Barni a kol. 1986, Friedlander a kol. 1993, Chen 1997).

PCR vo výskume

Diagnostika genetických ochorení a defektov

PCR ďalej umožňuje včasnú detekciu aktivovaných onkogénov a diagnózu rôznych rakovinových markerov (Sullivan 2000, Nakamura 1995, 1996).

Pomocou PCR môžeme detekovať aj pôvodcov infekčných ochorení prakticky v akomkoľvek druhu vzorky a aj pri jeho veľmi nízkej koncentrácii. Možno stanoviť chlamídie, HIV, Epstein-Barr vírus, vírusy spôsobujúce leukémiu, pôvodcu boreliózy, hepatitídy, meningitídy, tuberkulózy, týfusu, malárie a mnohých ďalších ochorení. (Balmaseda a kol. 1999, Barro a kol. 1999, Campbell a kol. 1999, Lachaud a kol. 2000).

Vzhľadom k jedinečnosti DNA každého jedinca je možné amplifikáciu hypervariabilných častí DNA použiť pri dokazovaní v kriminalistike, v súdnom lekárstve, či v paternitných sporoch (Benecke 1997, Linch a kol. 1998, Oz a kol. 1999, Woller a kol. 1997). O využití PCR-metódy v súdnom lekárstve ako prvý informoval Higuchi a kol. r. 1988: z jediného vlasu sa im podarilo amplifikovať a typizovať lokus HLA-DQa (Lászik a Sótonyi 1997).

Využitie PCR v diagnostike je stále širšie a častejšie, a táto tendencia potrvá s pribúdajúcimi znalosťami o štruktúre ľudského genómu a to nielen preto, že jeho štruktúru poznávame hlbšie – v podobe nukleotidovej sekvencie, ale aj preto, že objavujeme ďalšie a ďalšie príčiny chorobných stavov na úrovni DNA. Pretože sú tieto príčiny vo svojej podobe a účinku veľmi rozmanité, prístupy DNA diagnostiky vynikajú značnou univerzálnosťou. Ich účelom je identifikácia stavu (a funkcie) oblasti, alebo úseku DNA, ktorá nás zaujíma z dôvodu otázky zdravia alebo nemoci.

...a len čas povie, ktoré nové oblasti biológie ešte budú

**Rakovinová
diagnostika**

**Infekčné
ochorenia**

Kriminalistika

ovplyvnené ďalším vývojom a aplikáciou tejto perspektívnej metódy.

PRÍPRAVA VZORIEK

Na diagnostické účely DNA sa môže izolovať zo všetkých buniek obsahujúcich jadro, v praxi sa však najčastejšie využívajú leukocyty, po prípade bunky z choriových klkov a z plodovej vody.

Postup: Odoberie sa venózna krv v množstve cca 10ml. Pridá sa antikoagulant (0.5 ml 0.5 M roztoku EDTA, pH = 8.0; pozor nie heparín!) V prípade, že nie je možné zabezpečiť také množstvo – napr. pri vyšetrovaní novorodencov - v tom prípade je potrebné proporcionálne znížiť aj množstvo antikoagulantu. Hneď po odobratí je nutné krv dôkladne premiešať s antikoagulantom. Takto pripravené krvné vzorky je možné pred izoláciou skladovať pri 4 °C niekoľko dní, pri –20 °C niekoľko týždňov, a pri –70 °C niekoľko mesiacov.

Po rozmrazení krvné vzorky je potrebné čo najskôr spracovať (do 24 hodín), aby sa predišlo degradácii DNA, lebo predpokladom úspešnej molekulárnej analýzy ľudského génu je získanie dostatočne čistej a neporušenej DNA.

Uvediem nami používanú dvojdnú izoláciu DNA z krvi vysoľovacou metódou podľa Millera a kol. (1988), ale existujú aj ďalšie zaužívané metódy, ako napr. 11 rôznych metód popísaných na internetových stránkach Oklahomskej univerzity.

Na izoláciu malého množstva krvi sa odporúča použiť kity ponúkané firmami zaoberajúcimi výrobou produktov pre molekulárno-biologické laboratóriá. Tieto kity sa používajú aj v kriminalistike a zaručujú dobrý výsledok aj z extrémne ma-

**Metodika
získavania
materiálu**

Izolácia DNA

lých množstiev vzorky. Použitie kitov je pohodlnejšie a šetrí čas, pretože umožňuje izoláciu DNA za 30 minút.

Čistý roztok DNA (nekontaminovaný baktériami alebo chemikáliami, napr. fenolom) je pomerne stabilný a odolný voči degradácii, preto je možné jeho dlhodobé skladovanie v mrazničke (pri -20 °C) alebo aj v chladničke (pri 4 °C). Vzhľadom na to, ako sa s týmito vzorkami pracuje (t.j. skúmavky sa otvárajú), je zvýšené riziko kontaminácie. Časté zmrazovanie a rozmrazovanie DNA tiež neprospieva, preto je dobré vzorky rozdeliť do menších alikvotov. Vzácné vzorky a vzorky určené na dlhodobé uchovávanie (niekoľko desiatok rokov) sa odporúča skladovať pri -70 °C.

Aby sa vylúčila možnosť akejkoľvek zámieny, je potrebné zaviesť prehľadnú evidenciu vzoriek. Vedie sa priebežná evidencia biologických vzoriek došlých na izoláciu DNA, kde sa uvedie dátum kedy vzorka došla, kto materiál poslal, meno probanda, dátum izolácie DNA a priradené identifikačné číslo DNA vzorky.

Obr. č. 39.: Roztoky potrebné na izoláciu DNA podľa Millera a kol. (1988)

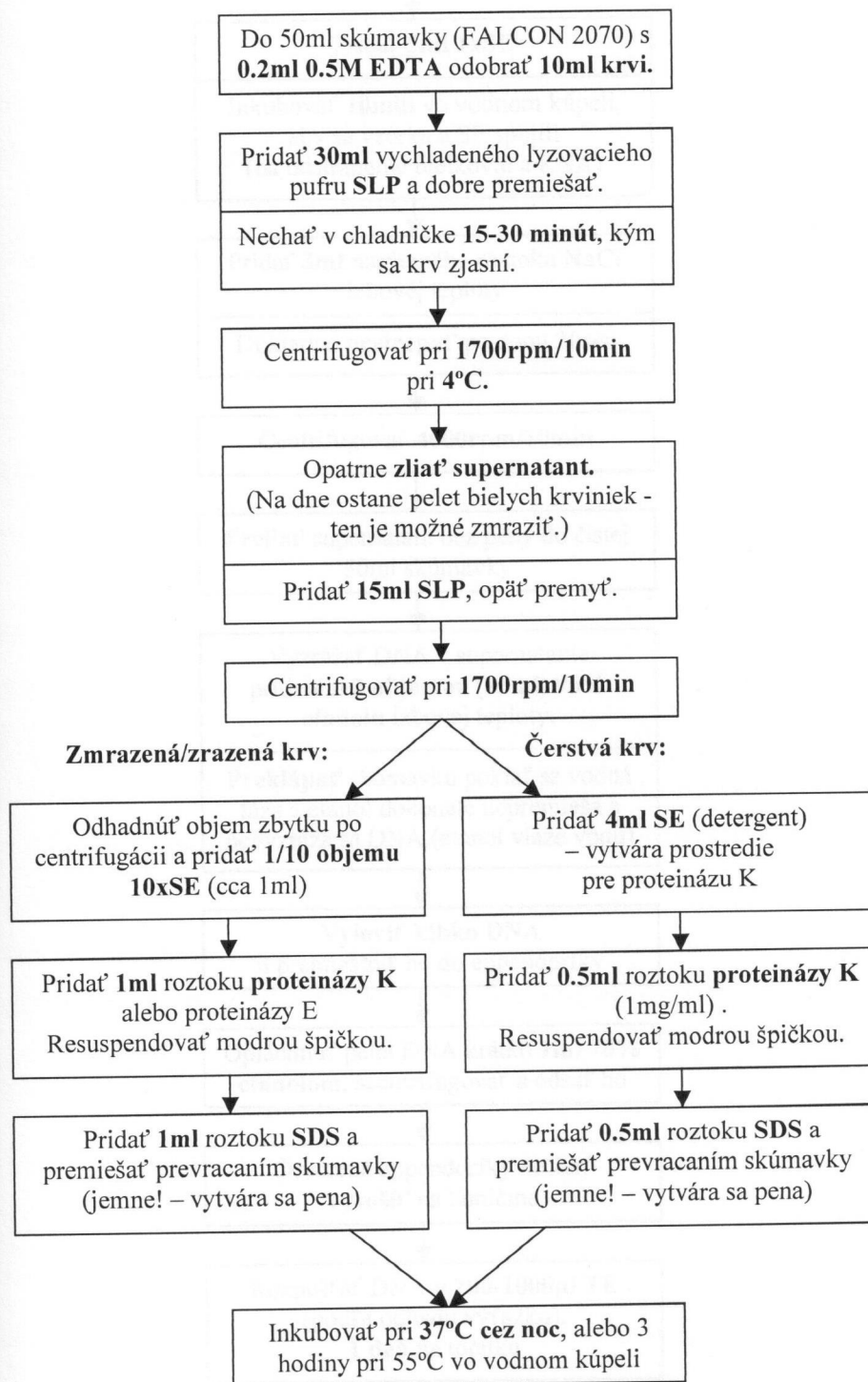
10xSE (500ml):	94ml 4M NaCl 250ml 0.5M EDTA (pH=8.0) doplniť H ₂ O do 500ml
4M NaCl:	70.1g NaCl H ₂ O 300ml
10xSIP (500ml):	41.5g NH ₄ Cl 5g KHCO ₃ 1ml 0.5M EDTA (pH=8.0) doplniť H ₂ O do 500ml
10xSDS (500ml):	50g SDS 450ml H ₂ O
Proteináza K	(1mg/ml): 100mg do 100ml H ₂ O (rozdeliť na alikvotne čiastky)

**Skladovanie
vzoriek**

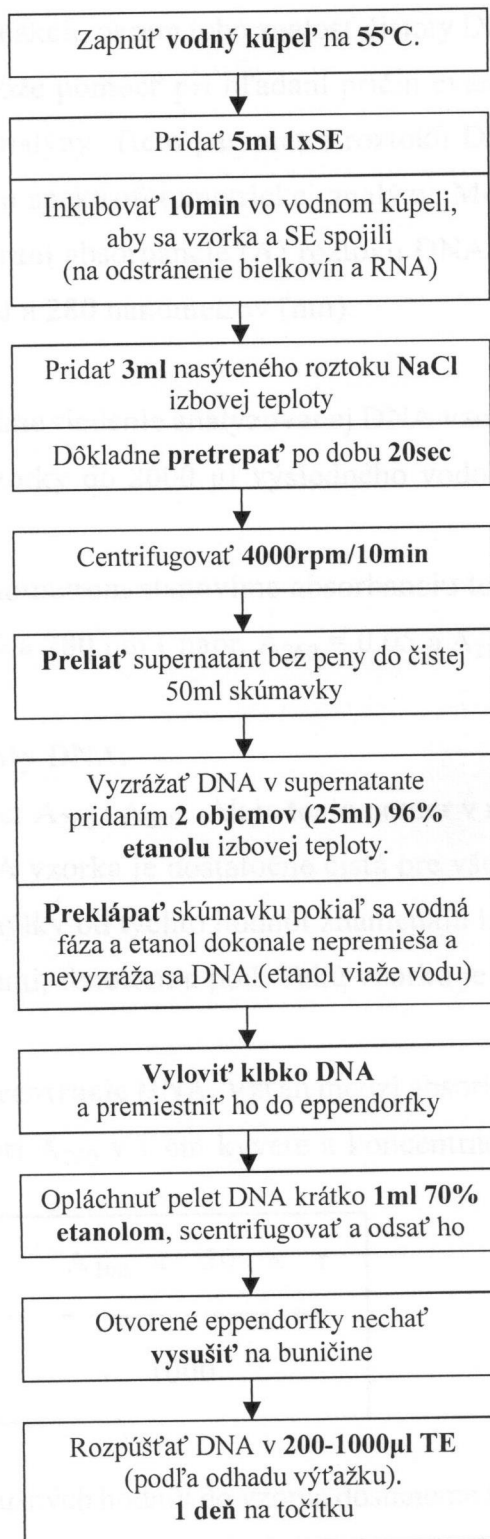
Evidencia vzoriek

Extrakcia DNA podľa Millera a kol. (1988):

I. deň:



II. deň:



Niektoré metodiky DNA analýzy vyžadujú pomerne presné množstvo DNA v reakcii, okrem toho znalosť čistoty DNA vzorky mnohokrát môže pomôcť pri hľadaní príčin eventuality neúspechov analýzy. Tieto parametre roztoku DNA sa stanovujú pomocou spektrofotometrickej analýzy. Metóda je založená na meraní absorbancie (A) roztoku DNA pri vlnových dĺžkach 260 a 280 nanometrov (nm).

Postup:

1. Pripraví sa známe riedenie analyzovanej DNA vzorky (napr. 10 μ l DNA vzorky do 2000 μ l výsledného vodného roztoku, t.j. $r = 200$.)

2. UV spektrofotometrom stanovíme absorbanciu tohto roztoku DNA pri 260 a 280 nm (napr. $A_{260} = 0.05$ a $A_{280} = 0.028$).

Stanovenie čistoty DNA.

Vypočíta sa pomer $A_{260} : A_{280}$. Ak je tento pomer v rozmedzí 1.6 – 2.0, DNA vzorka je dostatočne čistá pre všetky analýzy. Väčšie odchýlky od týchto hodnôt znamenajú kontamináciu bielkovinami, fenolom a pod. Takú vzorku je potrebné prečistiť.

Stanovenie koncentrácie DNA. Vzťah medzi absorbanciou roztoku DNA pri A_{260} v 1 cm kyvete a koncentráciou DNA:

$$K = \frac{A_{260} \times 50 \times r}{1000}$$

Dosadením príslušných hodnôt do vzorca dostaneme koncentráciu analyzovanej DNA vzorky v μ g/ μ l.

Stanovenie koncentrácie a čistoty DNA

PRINCÍP PCR METÓDY

PCR - polymerázová reťazová reakcia (polymerase chain reaction) sa používa pre namnoženie úseku DNA ležiacej medzi dvoma oblasťami známej nukleotidovej sekvencie. Pritom sa nevyžaduje znalosť nukleotidovej sekvencie cieľovej oblasti DNA. Táto metóda umožňuje detekciu hypervariabilných oblastí limitovanej dĺžky (okolo 1 kb) s extrémnou citlivosťou a špecifičnosťou, bez nutnej prítomnosti značených sond (Boerwinkle a kol. 1989a).

Princíp PCR sa vlastne zhoduje s princípom replikácie DNA pri delení buniek. Pri replikácii DNA sa dvojvláknová molekula enzymaticky "rozpletie" na dve jednovláknové, z ktorých každá slúži ako matrica pre syntézu komplementárneho vlákna. Výsledkom tohto procesu sú dve dvojvláknové molekuly DNA, identické svojím poradím nukleotidov s východiskovou molekulou. Takéto zdvojenie nastáva v každom bunkovom cykle.

Pri PCR prebieha analogický proces v in vitro podmienkach.

PCR-reakcia

PCR-reakcia je vlastne opakovaná, cyklická inkubácia reakčnej zmesi pri rôznych teplotách.

Každý cyklus sa skladá z troch krokov, charakterizovaných teplotou a časom. Jednotlivé kroky sú :

denaturácia DNA

annealing (hybridizácia) primerov

polymerizácia (extenzia) DNA

Na rozdiel od replikácie DNA v bunkách, pri PCR dvojvláknová DNA sa nerozpletie pôsobením enzýmov, ale zvý-

**Analógia
PCR-metódy**

Denaturácia DNA

šením teploty. Teploty okolo 92 - 95 °C prakticky postačujú na denaturáciu DNA fragmentov ľubovoľného nukleotidového zloženia. Tento proces trvá od 15 do 30 až 60 s pri bežnom cykle. Prvý cyklus je ale zahájený 2 až 5 minútovou denaturáciou, kedy dochádza k rozpleteniu celkovej dvojreťazcovej DNA na dva samostatné reťazce, bez toho aby došlo k poškodeniu primárnej štruktúry DNA.

Ďalším dôležitým rozdielom oproti replikácii je, že pri PCR sa neamplifikuje celá bunková DNA, ale len experimentátorom zvolený krátky úsek.

Po poklese denaturačnej teploty sa v druhom kroku podľa princípu komplementarity naväzujú oligonukleotidové primery komplementárnymi sekvenciami na okraje vymedzeného segmentu (jeden je komplementárny k vláknu „+“ a druhý k vláknu „-“)

Primery sú synteticky zostrojené oligonukleotidy, dlhé najčastejšie 18 až 40 nukleotidov, aby boli dostatočne selektívne na vyhľadávanie určitého miesta - aby rozoznali množstvo podobných sekvencií vyskytujúcich sa náhodne okolo cieľových úsekov v tak zložitom genóme, akým je ľudský genóm. Primery slúžia ako štartovacie miesta pre DNA-polymerázu: tá totiž dokáže syntetizovať druhé vlákno DNA iba vtedy, ak má dvojvláknový východiskový bod. Tento východiskový bod vznikne napojením sa primeru na komplementárny úsek jednovláknovej DNA: napojenie sa (*hybridizácia*) primeru nastáva za vhodných podmienok samovoľne. Každý primer má svoju vlastnú hybridizačnú teplotu, ktorá je určená jeho dĺžkou a zložením. Hybridizácia vyžaduje teploty od 40 do 65 °C Dlhšie primery majú vyššiu

Annealing primerov

hybridizačnú teplotu a môžu byť omnoho selektívnejšie (Sambrook a kol. 1989), ale tým riskujeme denaturáciu enzýmu.

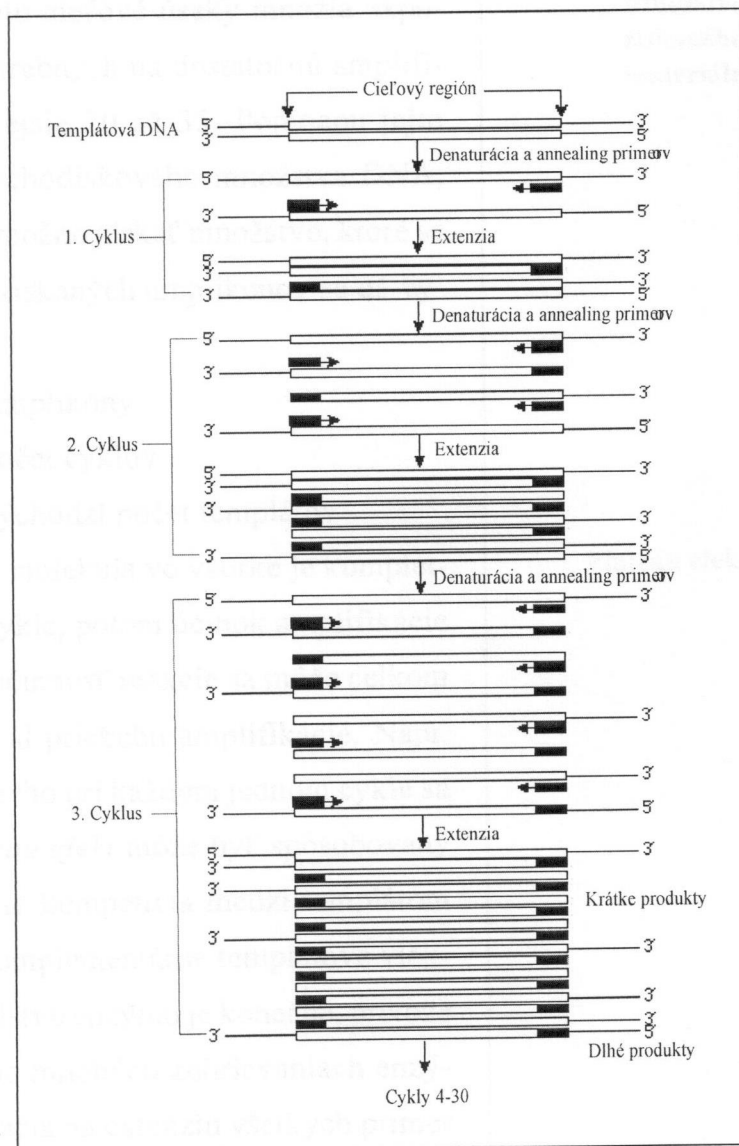
Ďalší krok, polymerizácia DNA je najkonzervatívnejším krokom PCR. Termostabilné DNA polymerázy majú najvyššiu aktivitu väčšinou pri 72 °C. Dĺžka syntetického kroku je závislá na dĺžke amplifikovanej DNA, obvykle však stačí 1 minúta.

Vyššie popísané tri kroky predstavujú jeden cyklus.

Z obrázku č. 40. je zrejmé, že po troch cykloch vyššie uvedených krokov vznikajú z pôvodných dlhých vlákien DNA krátke úseky, vymedzené na obidvoch koncoch sekvenciou použitých primerov. Kritickou požiadavkou extenzie je, aby produkt každého primeru bol predlžovaný až kým nepresahuje cez cieľový región – aby obsahoval aj sekvenciu ďalšieho ohraničujúceho primeru. Takto potom každý extendovaný produkt môže slúžiť ako templát v ďalšom cykle.

Extenzia vlákna

Obr. č. 40.: Princíp PCR



Obr. č. 41.: Podmienky PCR-reakcie pri spracúvaní našich vzoriek

Lokus	prvotná dešpiralizácia	denaturácia	annealing primerov	elongácia	počet cyklov	finálna elongácia
ApoB	94°C / 4'	94°C / 1'	59°C / 6'	72°C / 2'	31x	70°C / 7'
pMCT118	94°C / 4'	94°C / 45''	64,5°C / 45''	70°C / 4'(8')	30x	70°C / 7'
Col2A1	94°C / 4'	94°C / 1'	66°C / 5'	72°C / 2'	30x	70°C / 7'
YNZ22	94°C / 4'	93°C / 1'	68°C / 6'	72°C / 2'	31x	70°C / 7'
9 STR lokusov AmpFISTR Profiler Plus	95°C / 11'	94°C / 1'	59°C / 1'	72°C / 1'	28x	60°C / 45'

Počas PCR sa preto tieto cieľové úseky množia exponenciálne. Počet cyklov, potrebných na dostatočnú amplifikáciu býva v praxi najčastejšie 20 až 35. Pomocou tejto metódy aj z nepatrného východiskového množstva DNA, dokonca aj z jedinej bunky, možno získať množstvo, ktoré sa dá vizualizovať. Množstvo získaných ampliconov sa dá vypočítať zo vzťahu:

$$A = (2^n - 2n)v$$

A – amplicony

n – počet cyklov

v – východzí počet templátov

Keď každá templátová molekula vo vzorke je kompletne predĺžovaná v každom cykle, potom účinok amplifikácie je 100 %-ný. V praxi však účinnosť reakcie sa môže celkom značne meniť v závislosti od priebehu amplifikácie. Napr. množstvo produktu vyrobeného pri každom jednom cykle sa môže znižovať. Tento *plateau efekt* môže byť spôsobovaný dvoma fenoménmi: ak rastie kompetícia medzi templátom a primerom, a reanealujú komplementárne templátové vlákna; alebo z dôvodu, že množstvo enzýmu je konečné, pretože napriek jej termostabilite po mnohých zohrievaniach enzýmy sa unavujú, a preto nestačia na extenziu všetkých primer – templátových komplexov za pridelenú dobu. Okrem toho

**Množstvo
získaného
materiálu**

Plateau efekt

aj koncentrácia dNTP sa znižuje, preto hrozí nebezpečenstvo chybného zabudovania báz. Efektivita môže tiež závisieť od množstva pôvodného cieľu (*target*) a od jej vlastností (ako napr. od druhotnej štruktúry). Vo všeobecnosti dlhé cieľové fragmenty sú amplifikované menej efektívne ako kratšie, ale môže to byť ovplyvnené aj sekvenciou DNA. Konečne niektoré primery pracujú lepšie ako iné, aj keď cieľová sekvencia je taká istá. Príčina tohto javu nie je známa. Pridanie reagen cií, ktoré majú tendenciu redukovať sekundárnu štruktúru v niektorých prípadoch tiež môže pomôcť.

Celý ten postup trvá iba niekoľko hodín a jeho podstatnú časť možno automatizovať tak, že potrebné reakčné teploty zabezpečia automatizované zariadenia, procesorom riadené termostáty (tzv. PCR-termocykléry), ktoré cyklicky menia teploty podľa vopred nastaveného programu, a v ktorých sa môžu dosiahnuť presne definovateľné zmeny inkubačných teplôt behom veľmi krátkej doby (rýchlosť zmeny približne $1^{\circ}\text{C}/\text{sec}$).

Výsledkom PCR je populácia špecifickej sekvencie DNA. Pre diagnostické účely samozrejme túto sekvenciu (fragment DNA) je potrebné podrobiť ďalšej analýze. Niekedy postačuje obyčajná elektroforéza v agarózovom alebo v polyakrylamidovom géle za účelom stanovenia dĺžky namnoženého fragmentu, niekedy však je potrebné aplikovať oveľa komplikovanejšie a náročnejšie metodiky molekulárnej biológie (reštrikčnú analýzu, elektroforézu v denaturačnom gradiente, metódu na stanovenie konformačného polymorfizmu jednovláknovej DNA a pod.).

Termocykléry

Obr. č. 42.:



Cyklér typu GeneAmp
PCR System 9700

POLYMERÁZOVÁ REŤAZOVÁ REAKCIA

Príprava vlastnej PCR reakcie je veľmi jednoduchá, spočíva len v presnom pipetovaní jej komponentov. Zaviesť však spoľahlivo fungujúcu metodiku, zaručujúcu špecifický výsledok hlavne keď potrebujeme pracovať s novými, ešte neodskúšanými primermi, mnohokrát vyžaduje veľa trpezlivosti a aj nemalé finančné náklady. Optimalizácia PCR reakcie je prakticky vždy empirická (aj keď vychádzame z publikovaných laboratórnych protokolov) a často je potrebné ju opakovať už pri výmene jediného komponentu reakcie, pretože špecifita PCR je výsledkom vyváženosti všetkých jej komponentov a faktorov ovplyvňujúcich jej priebeh.

Zloženie reakčnej zmesi

Reakčná zmes, v ktorej táto reakcia prebieha, má viaceré konštantné zloženie pre všetky metódy a obsahuje tieto základné zložky: reakčný pufo, deoxyribonukleotidtrifosfáty, primery, DNA polymerázu, sterilnú redestilovanú vodu, parafínový olej (fakultatívne) a analyzovanú vzorku DNA v reakčnom objeme: 20, 50 až 100 μl .

Reakčný pufo vytvára slabo zásadité prostredie pre činnosť enzýmu DNA polymerázy, ale v tomto prostredí sa budú nachádzať aj ostatné súčasti reakcie. Najdôležitejšími parametrami sú pH a koncentrácia horčíkových iónov. Použitá templátová DNA môže byť kontaminovaná látkami, ktoré budú s polymerázou o horčíkové ióny súperiť, preto môže byť reálna koncentrácia nakoniec nedostatočná. Výsledná koncentrácia MgCl_2 v reakčnej zmesi pre rôzne primery sa pohybuje v rozmedzí 1 až 6 mM; pre veľkú väčšinu primerov však vystačíme s koncentraciami 1,5 alebo 3 mM. Kon-

Pufo

**Koncentrácia
horčíkov**

centrácia horčícov ovplyvňuje annealing primerov, disociačnú teplotu PCR-produktu od templátu, vznik primer-dimerov, a aktivitu enzýmu. Prítomnosť EDTA v roztoku DNA zmení aktuálnu koncentráciu iónov.

Reakčný pufor obsahuje väčšinou pomocné látky KCl, TRIS a želatínu, ale niektoré pufry obsahujú namiesto KCl síran amónny, želatína býva nahradená bovinným sérovým albumínom (BSA) a pre dlhšie syntetické kroky namiesto TRISU môže obsahovať TRICIN, ktorý lepšie stabilizuje pH pri vysokých teplotách. Všeobecne platí, že musí sa nájsť súlad medzi templátovou DNA, pufrom a polymerázou. Zmena pufru môže urobiť z neaktívnej polymerázy polymerázu dobre účinnú. Práve preto v súčasnosti už výrobcovia s polymerázou spolu dodávajú aj reakčný pufor. V prípade, že taký nemáme k dispozícii, spoľahlivé výsledky dáva aj nasledovný univerzálny pufor, ktorý možno pripraviť bez väčších problémov. Uvedený rozpis v Obr. č. 43. je pre pufor 10x koncentrovaný, ktorý sa uchováva pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. (Do reakčnej zmesi sa pridáva 1x koncentrovaný).

U deoxyribonukleotidtrifosfátoch (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) vychádzame väčšinou z roztokov 100 mM koncentrácie, alebo nižšej s tým, že konečná koncentrácia v reakčnej zmesi sa bude pohybovať okolo 2 mM pre každý dNTP. Komerčné roztoky majú väčšinou upravené pH. S vyšším pH klesá stabilita dNTP – v tom prípade je potrebné neutralizovať NaOH, alebo zvýšiť horčíkové ióny. dNTP mix má obsahovať všetky štyri druhy dNTP v rovnakej koncentrácii –

Obr. č. 43.:

**Univerzálny reakčný pufor
pre PCR:**

- 100 mM Tris-HCl, pH - 8,8
- 500 mM KCl
- 1,7 mg/ml BSA (frakcia V)
- 1 % TRITON X-100
- x mM MgCl₂

dNTP mix

takto sa znižuje frekvencia chybného začlenenia báz. 100 mM dNTP mix skladujeme v malých množstvách pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby sa predišlo častým rozmrazovaniám.

Primery sú jednoduché oligonukleotidové reťazce dĺžky cca 20 nukleotidov a ich sekvencia je komplementárna k reťazcu (ktorý bude slúžiť ako templát) v smere syntézy. Je potrebné dbať na to, aby každý primer sám o sebe nemal tendenciu k zbaleniu sa do kĺbka vytvorením vodíkových väzieb medzi vlastnými nukleotidmi (je potrebné vyhnúť sa dlhším C alebo G úsekom na 3' konci a palindrómovým sekvenciám v rámci primeru) a aby oba primery boli k sebe čo najmenej komplementárne a nevysycovali sa navzájom. Okrem toho je potrebné rozhodnúť sa pre takú dvojicu primerov, ktorá sa spája s templátom pri približne rovnakej teplote. Čím väčší je rozdiel v anealačných teplotách, tým väčšie je riziko neuspokojivých výsledkov.

Koncentrácia primerov musí byť taká vysoká, aby rýchlo anealovali na jednovláknový target - rýchlejšie ako je reasociácia dvoch vlákien. Optimálny interval koncentrácie je medzi 0.1 až 0.5 mM. Vyššia koncentrácia zvyšuje riziko akumulácie netemplátovo závislých produktov a zvyšuje sa aj riziko vzniku primer-dimerov.

Primery

Obr. č. 44.:

Lokus	Primer	Literatúra
ApoBII	5'-ATGGAAACGGAGAAATTATG-3' 5'-CCTTCTCACTTGGCAAATAC-3'	Boerwinkle a kol. (1989)
D1S80 (pMCT118)	5'-GAAACTGGCCTCCAAACACTGCCCCGCG-3' 5'-GTCTTGTTGGAGATGCACGTGCCCTTGC-3'	Kasai a kol. (1990)
D17S30 (YNZ 22)	5'-CGAAGAGTGAAGTGCACAGG-3' 5'-CACAGTCTTTATTCTTCAGCG-3'	Horn a kol. (1989)
Col2A1	5'-CCAGGTTAAGGTTGACAGCT-3' 5'-GTCATGAACTAGCTCTGGTG-3'	Wu a kol. (1990)

VNTR lokusy ApoBII, D1S80, D17S30 a Col2A1 sa amplifikujú s použitím oligonukleotidových primerov týchto sekvencií:

Taq polymeráza je nevyhnutnou súčasťou PCR-reakcie, ktorá sa stala rutinne prevádzateľnou až keď boli izolované termostabilné formy polymerázy. V súčasnosti sa v praxi používajú výlučne termostabilné polymerázy, dodnes najpoužívanejšia je pôvodná polymeráza z *Thermus aquaticus*. Podobná polymeráza sa dá izolovať aj z *Thermus thermophilus*. Je potrebné si však uvedomiť že aj keď sa jedná o termostabilné polymerázy, opakované denaturácie pri zvýšených teplotách nad 92 °C znižujú ich životnosť. Napr. aktivita *Taq* polymerázy pri 92 °C je 130 min, ale pri 95 °C už len 40 min. Preto pri amplifikácii úsekov vyžadujúcich denaturáciu 95 °C a viac, odporúča sa pridať polymerázu do reakcie až po prvej dlhšej inkubácii, a jej ďalšie pridanie po prvých 10 – 20 cykloch.

Priemerná potrebná koncentrácia polymerázy na bežnú reakciu je 1 - 2,5 U/100 µl, v závislosti od kvality enzýmu. Zvyšovanie množstva nad 2,5 U môže niekedy zvyšovať výťažok reakcie do určitého bodu, ale tým sa neúmerne zvyšuje aj riziko nešpecifických PCR produktov. Výsledok môžeme skontrolovať na gélovej elektroforéze: silná šmuha na pozadí znamená príliš vysokú koncentráciu enzýmu, slabé pružky však znamenajú nízku koncentráciu enzýmu. Kvalita enzýmu sa môže meniť v závislosti na výrobcu, ale aj v rámci jednej firmy v jednotlivých eppendorfkách (Nyitray a Szilágyi 1999).

Pre krátke časové cykly PCR – reakcie je potrebná rýchle teplotné vyrovnanie vzorky. Reakčný roztok je zvyčajne

Taq polymeráza

Minerálny olej

prekrytý 40-60 µl minerálneho oleja, aby sa z nej neodparovalo, a taktiež to prispieva k rýchlemu teplotnému vyrovnaniu počas trvania reakcie. Najmodernejšie termocykléry však sú schopné zabezpečiť veľmi rýchle teplotné zmeny a keďže zohrievanie krytu zabraňuje tomu, aby sa vzorka vyzrážala na vrchnáčku skúmavky, minerálny olej nie je nevyhnutne potrebný na zabránenie odparovania.

Substrátom pre PCR je DNA buď genómová, alebo mitochondriálna. Môžeme ju získať rôznymi spôsobmi a v rôznych množstvách. I keď pre PCR vystačí jediná molekula DNA, neodporúča sa z takého množstva bežne vychádzať, lebo musíme zvyšovať počet cyklov. Ak sa nejedná o nejakú špecifickú amplifikáciu (napr. kriminalistickú expertízu z biologickej stopy a pod.), pri bežnej PCR sa odporúča vychádzať z 20 - 200 ng jedno alebo dvojvláknovej DNA. Pri väčšom a aj pri menšom množstve DNA je zvýšené riziko nešpecifity. Odporúča sa DNA rozpustiť v sterilnej redestilovanej vode (ak je DNA rozpustená v TE, väčšinou je potrebné adekvátne zvýšiť koncentráciu Mg^{2+} v reakčnom pufri).

Na doplnenie reakčnej zmesi do požadovaného objemu je potrebná sterilná redestilovaná voda. Celkový objem reakcie sa pohybuje v pomerne širokom rozmedzí, od 20 µl až do 100 µl. Zvolený objem závisí od toho, aké ďalšie analýzy je potrebné z amplifikátu urobiť. Samozrejme platí zásada, že čím menší reakčný objem nám stačí na potrebné analýzy, tým bude reakcia lacnejšia, čo pri súčasných finančných podmienkach nie je zanedbateľné hľadisko.

Templátová DNA

**Sterilná
redestilovaná
voda**

PODMIENKY PCR-REAKCIE

Reakčný objem zmesi v prípade analýz VNTR lokusov obsahoval: 1 µg genómovej DNA, 2 U Taq DNA polymerázy, 1 µM z oboch primerov, 1,5 mM MgCl₂ a 4 dNTPs, každý vo finálnej koncentrácii 200 µM. V prípade každej vzorky 50 µl reakčný objem bol prekrytý 50 µl minerálneho oleja.

Na amplifikáciu STR lokusov bol použitý kit ApmF/STR Profiler Plus PCR amplification Kit od firmy ABI. Reakčný objem zmesi bol 25 µl, ktorý bol amplifikovaný bez použitia minerálneho oleja.

Obr. č. 45.: Nami použitý termocykler



OPTIMALIZÁCIA PCR REAKCIE

Vďaka používaniu termostabilnej polymerázy všetky tri kroky amplifikácie (denaturácia, annealing a syntéza) sa môžu uskutočniť v jednej reakčnej zmesi vytvorením a cyklickým opakováním teplotného optima na určitú dobu pre tieto kroky. Tento teplotný profil je charakteristický pre každý primerový pár a má podstatný vplyv na úspešnosť a špecifitu PCR reakcie. V rámci teplotného profilu PCR najmenej variabilnou je teplota denaturácie templátovej DNA. Úplná denaturácia je však veľmi dôležitá pre úspešnosť reakcie. Teploty v rozmedzí 92 - 95 °C po dobu 30 až 90 sekúnd sa používajú vo väčšine protokolov. Ak G-C obsah amplifikovaného úseku je extrémne vysoký, denaturačnú teplotu aj

Teplotný profil

**Optimalizácia
denaturácie**

Obr. č. 46.: Fázy PCR-reakcie



dobu je potrebné zvoliť v blízkosti hornej hranice uvedeného rozpätia.

Teplota annealingu (hybridizácie primerov na templátovú DNA) je parameter, ktorý podstatne ovplyvňuje úspešnosť aj špecifitu PCR, preto jej optimalizácii je potrebné venovať zvýšenú pozornosť. Optimálna teplota annealingu bežne používaných primerov sa pohybuje v rozmedzí 37 - 70 °C. Príliš nízka teplota vedie k nešpecifickým PCR produktom, príliš vysoká teplota zase k tomu, že sa nesyntetizuje žiadny produkt. Pre niektoré primery optimálna teplota annealingu môže byť taká vysoká, že sa bude blížiť alebo dokon-

Optimalizácia annealingu

ca sa zhodovať s teplotným optimom tretieho kroku, t.j. syntézy: vtedy tieto dva kroky možno spojiť do jedného kroku (dvojkroková PCR).

Pri výpočte optimálnej annealingovej teploty vychádzame zo vzorca na výpočet bodu topenia:

$$T_m = 4 \times n (G + C) + 2 \times n (A + T)$$

Annealingova teplota T_a je od toho o 5 °C nižšia. Pri nových a neznámych primeroch sa odporúča začínať optimalizáciu annealingu teplotou 55 °C. Zvyšovaním teploty sa znižuje nekorektný annealing a chybná extenzia na 3'konci primeru. Nízka annealingova teplota pri vysokej koncentrácii dNTP spôsobuje tiež podobné javy.

Optimálna reakčná teplota termostabilných polymeráz je 72 - 74 °C. Na tejto teplote reakcia prebieha rýchlosťou 35-100 báz za sekundu (v závislosti od pufru, pH, koncentrácie solí a na templáte). Táto teplota málokedy vyžaduje optimalizáciu. Pre primery, ktorých optimálna teplota anealingu je vysoká (cca 60 °C a viac), možno teplotu syntézy znížiť na túto teplotu (aby sa dosiahol dvojkrokový cyklus) bez výraznejšieho zníženia efektívnosti syntézy. Čo sa týka dĺžky tohto kroku, závisí to jednak od dĺžky amplifikovaného segmentu, ale aj od jeho bazového zloženia. Platí tu pravidlo, že 1 kb dlhý segment vyžaduje cca 1 min syntézy. Úseky obsahujúce repetitívne sekvencie vyžadujú dlhšiu dobu pre efektívnu syntézu. Dlhšia extenzia môže byť výhodná v počiatočnej fáze, kedy je koncentrácia templátu ešte nízka, alebo v prípade, že koncentrácia produktov prevyšuje koncentráciu enzýmu.

Počet cyklov je tiež dôležitým faktorom ovplyvňujúcim úspešnosť a špecifitu PCR. V bežných PCR reakciách sa po-

**Optimalizácia
extenzie**

Počet cyklov

čet cyklov pohybuje v rozmedzí 25 - 40 cyklov. Čím je menej kópií východzej templátovej DNA, tým viac cyklov je potrebných pre optimálny výsledok, málokedy je však potrebných viac ako 40 cyklov, okrem toho nad 40 cyklov značne narastá množstvo nešpecifického produktu. Pre templáty s veľmi nízkym počtom kópií sa skôr doporučuje používanie tzv. "nested" primerov namiesto extrémneho zvyšovania počtu cyklov. Empiricky, ak je množstvo templátových molekúl približne 3×10^5 odporúčaný počet cyklov je 25-30;

1.5×10^4 odporúčaný počet cyklov je 30-35;

1×10^4 odporúčaný počet cyklov je 35-40;

50 odporúčaný počet cyklov je 40-45 (Niyitray a Szilágyi, 1999).

Hot start (horúci štart) znamená zaradenie inkubácie pri 95 °C na dobu 5 - 10 min kompletne namiešanej reakčnej zmesi pred pridaním enzýmu a primerov. Horúci štart jednak zvyšuje špecifitu reakcie tým, že teplota anealingu sa dosiahne "zhora" (teda od teplôt, pri ktorých nešpecifický annealing je vylúčený). Ďalej zvyšuje efektívnosť reakcie tým, že pri takej teplote sú ireverzibilne inaktivované nukleázy, ktoré sa mohli dostať do reakčnej zmesi a mohli by zdegradovať templátovú DNA alebo primery.

„hot start“

BIOCHÉMIA REAKCIE

Vlastnosti termostabilných polymeráz

Ako polymerizačný enzým sa pôvodne používala termolabilná DNA - polymeráza I. z *E. coli* (tzv. Klenow fragment) (Saiki a kol. 1985, Mullis a kol. 1987), ktorá sa vysokou teplotou (94 °C) v denaturačnej perióde inaktivovala. Enzým sa preto musel pridávať v každom cykle. Zásadnou zmenou –

ktorá odstránila tento problém a podstatne urýchlila priebeh reakcie bolo zavedenie termostabilnej DNA – polymerázy *Taq*, izolovanej z termofilnej baktérie *Thermus aquaticus* žijúcej v horúcich prameňoch Yellowstoneského národného parku. Tento enzým dovoľuje annealing a extenziu pri zvýšených teplotách (Křemen a kol. 1998) a okrem DNA – polymerizačnej aktivity má aj 5' - 3' exonukleázovú aktivitu, chýba mu však 3' - 5' exonukleázová aktivita.

Zavedenie *Taq* polymerázy vo veľkej miere zjednodušila PCR protokol a umožnila vyvinúť termocyklery na automatizáciu reakcie; tiež dramaticky sa zvýšila špecifita a zisk PCR reakcie a dovoľila annealing primeru a extenziu pri vysokých teplotách. *Taq* DNA-polymeráza izolovaná z klonovaných *Thermus aquaticus* génov v *E. coli* je za stanovených podmienok vysoko účinná a má rozpätie extenzie viac ako 60 nukleotidov za sekundu pri 70 °C použitím phagovej DNA M13 ako templátu. Pri nižších teplotách rozsah extenzie (*extension rate*) a aj účinnosť klesá (Innis a kol. 1988).

V minulosti boli izolované rôzne termostabilné DNA-polymerázy s rôznymi vlastnosťami z rôznych baktérií. O polymerázach z *Thermoplasma acidophilus*, *Thermococcus litoralis* a *Methanobacterium thermoautotrophicum* a aj ďalších (ako uvádza Obr. č. 47.) bolo dokázané, že majú 3' - 5' exonukleázovú aktivitu. Polymeráza z termoacidofilného archeobaktéria *Sulfolobus acidocaldarius* polymerizuje aj pri teplote 100 °C (Elie a kol. 1988) čo môže vyriešiť amplifikáciu mnohých sekundárnych štruktúr. Ale aj v prípade *Taq* polymerázy včlenenie modifikovanej bázy 7-Aza-dGTP bolo úspešne použité na amplifikáciu sekvencií zo sekundárnou štruktúrou v regiónoch bohatých na GC (McConlogue a kol. 1988).

Výhody Taq-polymerázy

Iné polymerázy

Hľadanie nových termostabilných polymeráz viedlo k objaveniu enzýmu, ktorá má reverznú transkripčnú aktivitu. Polymeráza z *Thermus thermophilus* môže spiatočne transkribovať RNA v prítomnosti $MnCl_2$.

Ďalšie často používané DNA-polymerázy popisuje Obr. č. 47. – v nej uvedené údaje pochádzajú zo zdrojov: Blaber (1998), Roche Molecular Biochemicals PCR Applications Manual (Steffen a kol. 1999), a z internetovej stránky http://www.promega.com/amplification/proguide/070_04/promega.html#t02

Obr. č. 47.: Charakteristika jednotlivých polymeráz

Polymeráza	Pôvod		Polč.rozp.	5'-3'exo	3'-5'exo	ext.(nt/sec)	koniec
Taq	prír.	<i>Thermus aquaticus</i>	40min	áno	nie	75	3' A
Amplitaq®	rekomb.	<i>Thermus aquaticus</i>	40min	áno	nie	75	3' A
Stoffel fragment®	rekomb.	<i>Thermus aquaticus</i>	80min	nie	nie	>50	3' A
Vent™	rekomb.	<i>Thermococcus litoralis</i>	400min	nie	áno	>80	>95% tupý
Deep Vent™	rekomb.	<i>Pyrococcus</i> GB-D	1380min	nie	áno	?	>95% tupý
Tht	rekomb.	<i>Thermus thermophilus</i>	20min	áno	nie	>30	3' A
Pfu	prír.	<i>Pyrococcus furiosus</i>	>120min	nie	áno	60	tupý
UITma™	rekomb.	<i>Thermotoga maritima</i>	>50min	nie	áno	?	>95% tupý

Misinkorporácia – chybné začlenenie

Pomer zle začlenených nukleotidov v PCR bolo stanovené rôznymi štúdiami a to určením chybných nukleotidov v sekvencii PCR produktov a vypočítaním priemerného pomeru na cyklus (Saiki a kol. 1988).

Vierohodnosť PCR (*fidelita*) Závisí predovšetkým od enzýmu: *Taq* polymeráza nemá 3' - 5' exonukleázovú aktivitu, preto nedokáže odštiepiť chybne zabudované bázy. Frekvencia chybne zabudovaných báz je 1 z 9000 b, a frekvencia „frameshiftu“ je 1 z 41000 b. Na misinkorporačný pomer môžu vplyvať okrem vlastnosti DNA polymerázy aj podmienky reakcie, napr. koncentrácia dNTP (ak je koncentrácia jed-

Fidelita PCR

ného dNTP nižšia ako ostatných troch, zvyšuje sa pravdepodobnosť chýb). Prvé stanovenie misinkorporácie nukleotidov (1.7×10^{-4} nukleotidov polymerizujúcich za cyklus) pomocou *Taq* polymerázy pri PCR (Saiki a kol. 1988) používa 1.5 mM z každého dNTP, 10 mM $MgCl_2$, a 37 °C teplotu pri anealingu na amplifikáciu 272 bp fragmentu z HLA-DPB1 génu. Iné štúdie (Arnheim a Erlich 1992) uvádzajú pomer priemernej misinkorporácie nukleotidov 5×10^{-6} na cyklus. Tieto štúdie použili nízku koncentráciu dNTP a $MgCl_2$ (200 μM z každého dNTP a 1.5 mM $MgCl_2$) a takisto vyššiu anealingovú teplotu (54-55 °C). Podľa priemerných určení misinkorporácií (8.5×10^{-6}) len 3 % molekúl z 200 bp dlhých PCR produktov budú obsahovať chybnú bázu niekde v sekvencii po 30 cykloch. Vo všeobecnosti platí, že misinkorporácie a tiež zlé hybridizácie primerov môžu byť zredukované maximalizovaním teploty anealingu a minimalizovaním koncentrácie dNTP a $MgCl_2$.

Ale podmienky reakcie, ktoré maximalizujú fidelitu, môžu redukovať účinnosť PCR. Napriek spomínaným možným problémom *Taq*-polymeráza patrí k najspoľahlivejším z bežne dostupných enzýmov. Ak porovnáme vierohodnosť *Taq*-polymerázy a polymerázy z *T. litoralis* zistíme, že druhý enzým, napriek jej 3'-5' exonukleázovej korekčnej aktivite môže zle inkorporovať 25 % nukleotidov voči *Taq* enzýmu (Arnheim a Erlich 1992).

V našom prípade (pri sledovaní VNTR a STR polymorfizmov) výmena jednej bázy za inú neovplyvňuje dĺžku sledovaného fragmentu, preto také občasné chyby sa ani nevšimnú.

V prípadoch, kedy je určenie sekvencie predsalen dôležité, je rozumné sekvenovať násobky klónov derivované

z jedného PCR, alebo klónovať produkty z rôznych nezávislých amplifikácií na identifikáciu potencionálnych chýb.

Podporné látky (*enchancery*)

Už vyššie popísanú nešpecifickú amplifikáciu je možné potlačiť použitím 10 % dimetylsulfoxidu (DMSO), 1.25-5 % formamidu, alebo inými podpornými látkami ako sú 10-100 μ M tetrametylammonium chlorid (TMAC), 5-15 % polyetylen glykol 6000 (PGE), 10-15 % glycerol, 0.1-2.5 % Tween 20, 1 nM Gene 32 protein, 25 % dGTP nahradiť 7deaza-dGTP, atď (Křemen a kol. 1988).

Hybridné PCR-produkty

Ak amplifikovaná vzorka je heterozygotná (obsahuje dva rôzne alely pre cieľový lokus), alebo keď je amplifikovaných veľa rôznych ale príbuzných sekvencií tými istými primermi (to znam. multigénne rodiny alebo polymorfizmy), teoreticky je možné prepínanie (*swiching*) templátového vlákna in vitro.

V takýchto prípadoch sa formujú PCR hybridné sekvencie, kde primer ktorý bol čiastočne extendovaný na jednom z templátov, je anealovaný a ďalej extendovaný na druhom templáte. Aby sa uskutočnil tento takzvaný "skok", musí byť koncentrácia čiastočne extendovaných PCR produktov celkom vysoká. Okrem toho pravdepodobnosť parciálnej extenzie primeru taktiež závisí aj na vzdialenosti medzi primermi, na sekundárnych štruktúrach, na čase, ktorý je pridelený na extenziu, na aktivite polymerázy a na dĺžke DNA vlákna, ktoré obsahuje cieľovú sekvenciu.

Enchansery

"swiching"

Tento jav ako prvý popísal Sai-ki a kol. (1988). Formovanie hybridných molekúl môže byť minimalizovaný ak sa uskutoční len minimálny počet PCR cyklov potrebných pre detekciu.

Ale aj takýto hore popísaný skokový PCR (*jumping PCR*) môže byť užitočný za určitých podmienok. Napr. keď DNA je vysoko degradovaná. (DNA sa môže dolámať na kratšie fragmenty, keď izolácia bola prevedená nešetrne, alebo vychodzí materiál je už degradovaný). Ak DNA obsahuje skupinu čiastočne prekrývajúcich skupín fragmentov z targetu, potom opakované skoky môžu produkovať celodĺžkové PCR produkty.

Preferenčná amplifikácia

Za určitých podmienok sa môže vyskytnúť relatívna preferenčná amplifikácia jednej alely oproti druhej, a to hlavne v heterozygotných vzorkách, keď sa amplifikuje len veľmi malé množstvo molekúl. Jednou z možných príčin môže byť to, že jedna z dvoch alel môže mať nezvyčajnú DNA polymorfickú sekvenciu v mieste pripájania primeru. Alebo jedna alela môže mať vyšší GC obsah, a preto vyžaduje vyššiu denaturačnú teplotu než druhá. V prípade dĺžkového polymorfizmu zvyknú byť preferenčne amplifikované menšie alely.

Obr. č.48.:

Kontrola degradácie DNA

Niektoré metodiky (napr. Southernova hybridizácia) vyžadujú vysokomolekulárnu DNA, teda celistvú DNA. Určenie koncentrácie a čistoty DNA nám o degradácii nič nehovorí, preto pred takýmito aplikáciami sa odporúča jednoduché elektroforetické monitorovanie integrity DNA vzorky v 0.8 % agarózovom géli (stačí naniesť 0,5 µg vzorky) s vhodnou štandardou. DNA je vhodná na analýzu, keď v géli nevytvára "čmuhu", ale viacmenej ostrý pruh v polohe nad 23 kilobáz (kb).

Preferenčná amplifikácia

Kontaminácia

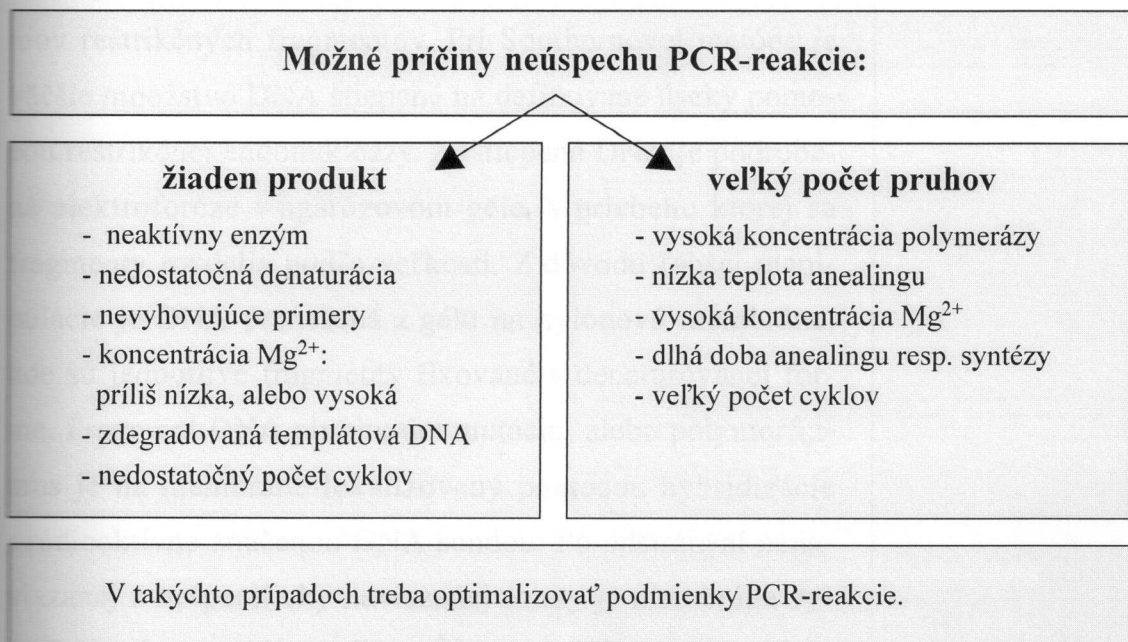
Kontaminácia skúmaviek PCR produktmi zo skorších experimentov môže zapríčiniť vážne problémy. Pri odstraňovaní možných príčin kontaminácie môže pomôcť fyzické oddelenie časti laboratória kde prebieha PCR reakcia, od tých častí, kde PCR-produkty sú analyzované. Okrem toho vyžaduje sa súprava mikropipiet so zabudovanými filterami, ktoré sú vyhradené len pre PCR reakcie, a tiež sa doporučuje častá výmena rukavíc pri manipulácii so vzorkami.

Kontaminácia vzoriek je dlhodobý vážny problém, a preto boli vyvinuté rôzne protokoly pre elimináciu kontaminácie DNA sekvencií z predchádzajúcich reakcií. Napr. UV ožarovanie obsahu skúmaviek môže poškodiť všetky kontaminčné sekvencie predtým, než sa do skúmavky pridá DNA templát a polymeráza. Ďalšou možnosťou je použitie dUTP namiesto dTTP (Arnheim a Erlich 1992). Takéto PCR produkty sú citlivé na degradáciu enzýmom uracil N-glykolázou. Pred začatím PCR-reakcie vzorka je vystavená pôsobeniu glykolázy, ktorá zničí všetky prenesené PCR-produkty, ale nedegraduje požadovaný templát. Nasleduje tepelná inaktívacia glykosylázy a potom PCR sa uskutoční s pridaním dUTP.

Okrem toho kvôli včasnému zisteniu novej kontaminácie sa súčasne so vzorkami inkubuje tzv. negatívna kontrola (kompletná reakčná zmes bez templátu).

Kontaminácia

Obr. č.49.:



METODIKA DETEKcie PCR PRODUKTOV

Detekcia PCR produktu

Vo väčšine prípadov je PCR produkt zisťovaný elektroforézou v agarózovom, alebo polyakrylamidovom géle, kde sa vizualizujú fragmenty DNA po zafarbení striebrom, alebo ethidium bromidom. Ethidium-bromid sa vmedzeruje medzi susedné báze v DNA a vytvára s ním komplex, ktorý po osvetlení ultrafialovým svetlom fluoreskuje (Doškar, 1997). Na géle potom molekuly DNA rovnakej veľkosti tvoria jeden prúžok, ktorého intenzita je priamo úmerná koncentrácii DNA.

V niektorých prípadoch je nutné PCR produkt dopredu naštípiť určitým reštrikčným enzýmom. Táto metóda je označovaná ako Southern blotting. V roku 1975 Edwin Southern zaviedol metódu, ktorou možno detekovať špecifické sekvencie báz príslušných DNA markerov, a tým umožniť identifi-

**Southernova
hybridizácia**

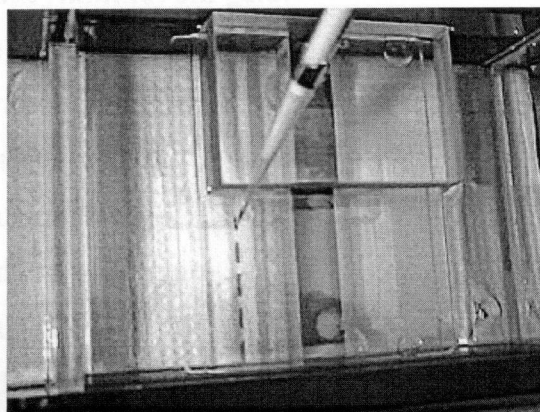
káciu jednotlivých alel príslušných dĺžkových polymorfizmov reštrikčných fragmentov. Pri Southernovej metóde je väčšie množstvo DNA štiepené na definované úseky pomocou reštrikčnej endonukleázy. Naštiepená DNA je podrobená elektroforéze v agarózovom géle, v priebehu ktorej sa fragmenty rozdelia podľa veľkosti. Z dôvodu ľahšej manipulácie je DNA prenesená z gélu na nylonovú membránu, kde sú jednotlivé fragmenty fixované v denaturovanej forme. Fragment DNA obsahujúci mutáciu, alebo polymorfizmus je na membráne lokalizovaný pomocou hybridizácie s rádioaktívne značenou DNA sondou. Po odstránení nena viazanej a nešpecificky naviazanej sondy je membrána vyhodnotená autorádiografiou. Čierne pružky zodpovedajú polohe hľadaných fragmentov na géle. Porovnaním so štandardou je možné stanoviť dĺžku týchto fragmentov.

Hoci PCR má mnohé výhody v porovnaní s membránovou hybridizáciou (extrémna citlivosť, rýchlosť, možnosť spracovania aj pomerne zdegradovanej DNA pod.), v súčasnosti v diagnostickej praxi sa využívajú obidva tieto metodické postupy, pričom niektoré typy mutácií sa dajú detekovať pomocou obidvoch, iné zase len pomocou jedného alebo druhého.

Elektroforéza

Elektroforéza patrí k metódam, ktoré sa štandardne používajú k separácii nukleových kyselín a proteínov. Pri elektroforéze sa molekuly rovnakého tvaru pohybujú v elektrickom poli rýchlosťou, ktorá je závislá na pomere

Obr.č. 50.: Pipetovanie vzoriek do gélu



ich náboja k molekulovej hmotnosti. Molekuly nukleových kyselín, ktoré majú v roztoku za neutrálneho pH záporný náboj v dôsledku ionizácie fosfátových skupín sa pohybujú smerom k anóde. Ak sa elektroforéza uskutočňuje v roztoku alebo na papieri, pohyblivosť rôzne dlhých reťazcov je však takmer rovnaká, pretože pomer náboja k molekulovej hmotnosti je pre jednotlivé nukleové kyseliny prakticky rovnaký (Křemen a kol. 1998).

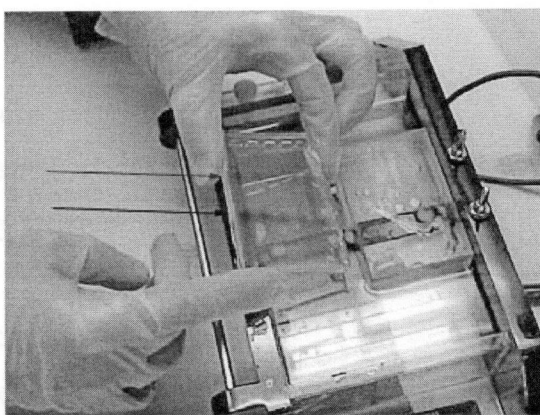
K optimálnemu rozdeleniu nukleových kyselín alebo proteínov dochádza pri elektroforéze v géle, kde je pohyblivosť odlišne veľkých molekúl rôznou mierou obmedzená. Molekuly tvorené dlhšími reťazcami sa pohybujú pómri gélu pomalšie ako kratšie molekuly. V géle s vhodnou porozitou sa dosahuje vysoko účinné delenie podľa dĺžky reťazcov.

Hustota a druh použitého gélu sa stanoví podľa dĺžky zisťovaných fragmentov. Kratšie VNTR a STR alely sa vykazujú na polyakrylamidovom géle, dlhšie VNTR alely sa separujú na agarózovom géle (Pádár a kol. 1997).

Elektroforéza na agarózovom a polyakrylamidovom géle

Pohyblivosť DNA v agarózovom géle je nepriamo úmerná logaritmu jej molekulovej hmotnosti. Pomocou elektroforézy je možné teda určiť dĺžku separovaných reťazcov DNA, porovnaním ich pohyblivosti s vhodne zvolenou štandardou známej dĺžky (Křemen a kol. 1998). Tieto štandardy sa pripravujú štiepením plazmidovej alebo vírusovej DNA reštrikčnými enzýmami. V súčasnej dobe sú komerčne dostupné štandardy

Obr.č. 51.: Elektroforéza na agarózovom géle



v prakticky ľubovoľnom rozmedzí dĺžky fragmentov.

Elektroforetická pohyblivosť tiež závisí na tvare molekuly DNA. DNA vo forme superhelixu sa pohybuje rýchlejšie ako lineárna molekula rovnakej dĺžky.

Elektroforéza v agarózovom géle sa uskutočňuje v plátoch gélu v horizontálnej polohe.

Bežná elektroforéza v agarózovom géle sa používa na separáciu fragmentov DNA veľkosti 0.1 až 30 kb. Odporúčané koncentrácie gélu v závislosti od dĺžky fragmentov uvádza tabuľka na Obr. č. 52.

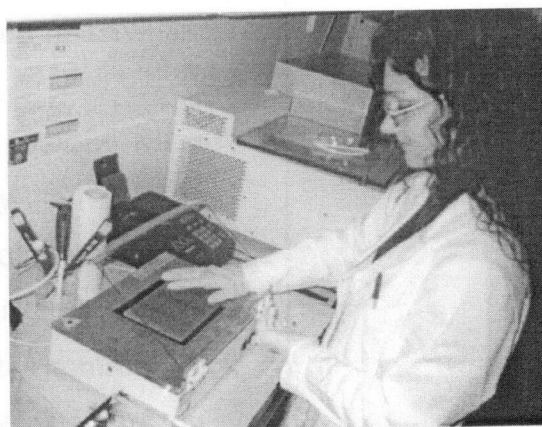
Agaróza je lineárny polysacharid, ktorý sa skladá z D-galaktózy a 3,6-anhydro-L-galaktózy. Pre elektroforetické účely sa pripravuje z agaru vysokej čistoty. Rozpustí sa v pufri vo vriacom vodnom kúpeli alebo v mikrovlnnej rúre, a pri teplote 50-60 °C sa nalieva do vodorovne umiestnenej formy. Po ochladení na 40 °C tuhne. Hrúbka gélu sa zvolí podľa množstva aplikovanej vzorky. Najčastejšie sa používajú gély 3 milimetrové. Do naliateho gélu sa zasunie šablóna ktorá v nej vytvorí jamky, do ktorých sa nanášajú vzorky. Po stuhnutí gélu sa šablóna vyberie, a gél sa s podložkou vloží v horizontálnej polohe do elektroforetického aparátu, ktorý sa naplní pufrom asi 1 mm nad horný okraj gélu.

Obr.č. 52.: Odporúčaná koncentrácia agarózy v závislosti na dĺžke sledovaných fragmentov DNA.

dĺžka fragmentov v kb	koncentrácia agarózy
30 až 1	0.5 %
20 až 1	0.6 %
12 až 0.8	0.7 %
7 až 0.5	0.9 %
6 až 0.4	1.2 %
3 až 0.2	1.5 %
3 až 0.1	2.0 %

Agaróza

Obr.č. 53.: Gél pod UV svetlom



Pred elektroforézou sa ku vzorkám pridávajú tiež farbivá – bromfenolova modrá a xylencyanol FF.

Nukleové kyseliny sa delia nízkonapäťovou elektroforézou pri potenciálovom spáde 5-10 V/cm dĺžky gélu. Priebeh elektroforézy sa sleduje podľa pohyblivosti pridaných farbív. Ak do gélu bol pridaný ethidium-bromid, ktorý fluoreskuje v ultrafialovom svetle, je možné zviditeľniť vzorky pod dlhovlnovým ultrafialovým svetlom medzi dvoma farbivami už v priebehu elektroforézy.

Elektroforéza na polyakrylamidovom géle je veľmi podobná elektroforéze na agarózovom géle, namiesto agaru sa však používa polyakrylamid. Gél v tomto prípade vzniká reakciou dvoch zložiek: akrylamidu a bisakrylamidu.

Takto vzniknutý gél v porovnaní s agarózovým gélom je vhodný na separáciu kratších fragmentov, aké sú aj STR-fragmenty. Elektroforéza na polyakrylamidovom géle môže byť prevedená v horizontálnej alebo vertikálnej polohe. Na zviditeľnenie DNA-fragmentov sa väčšinou používa farbenie striebrom.

Podmienky kontrolnej elektroforézy

Po amplifikácii 9 STR polymorfizmov, pred analýzou lokusov bola prevedená elektroforéza na zistenie prítomnosti a množstva PCR-produktov. Táto predbežná kontrolná elektroforéza bola prevedená horizontálnou elektroforézou na 6 % polyakrylamidovom géle. Fragmenty boli zviditeľnené farbením so striebrom.

Kapilárna elektroforéza

Táto metóda je ešte spoľahlivejšia a citlivejšia ako elek-

Farbivá

troforéza na polyakrilamidovom géle, preto je vhodná hlavne na zisťovanie STR polymorfizmov, predovšetkým v prípade vyhodnotenia výsledkov multiplex-PCR (amplifikácia viacerých lokusov naraz).

Takáto analýza sa prevádza na sekvenátori, preto je citlivá aj na jednobázové zmeny dĺžky sledovaných lokusov. Elektroforéza prebieha pri 15 kV napätí, preto stanovenie dĺžky fragmentov jednej vzorky (9 lokusov v jednom roztočku) netrvá dlhšie ako 30 minút.

Denaturované produkty amplifikácie sa vplyvom prúdu dostávajú do kapiláry dlhej cca. 45 cm s vnútorným priemerom 50 μm , ktorá je naplnená tekutým gélom. V istom bode kapilára je presvecovaná laserovým lúčom, ktorý generuje svetelný signál z farbív 5-FAM, JOE a NED, ktoré sú naviazané na primery. Farebné svetelné signály detekuje a rozlišuje CCD kamera. Dĺžku, intenzitu a farbu svetelného signálu jednotlivých fragmentov v závislosti od uplynutého času od začiatku elektroforézy spracúva a vyhodnocuje počítač. Výsledkom sú alely zistené vo vzorke určené porovnaním detekovaných alel so štandardou, ktorú v tomto prípade predstavuje alelový rebrík.

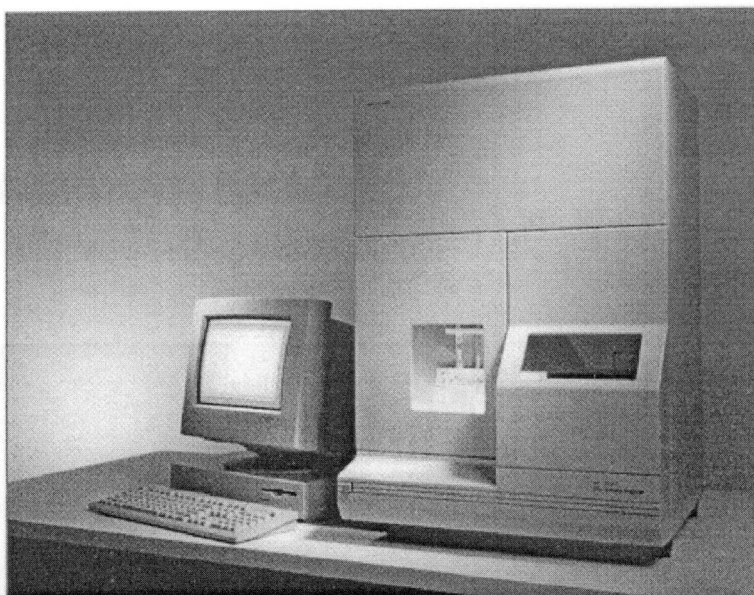
Výsledky sú prezentované v elektroforeogramoch, kde os Y predstavuje jednotky relatívnej fluorescence v závislosti od uplynutého času na osi X.

Podmienky elektroforézy

V prípade analýz VNRT lokusov získané fragmenty boli separované elektroforézou na 2 % agarózovom géle. PCR-produkty boli vizualizované fluorescenčným farbivom (ethídiu bromidom) pod UV svetlom. Na identifikáciu alel boli

použité alelové markery VIII od firmy Roche a 100 bp rebrík od firmy Advanced Biotechnology.

Elektroforéza STR lokusov bola riadená programom Collection Software v. 2.0 a prebiehala na prístroji Abi Prism 310 Genetic Analyzer. Kapilára bola naplnená tekutým gélom POP-4. Elektroforéza prebehla v denaturačnom prostredí ktoré bolo zabezpečené Formamidom. Na identifikáciu alel bol použitý alelový rebrík farbený 6-carboxy-x-rodaminom (ROX).



Obr. č. 54.: Genetický analyzátor Abi Prism 310

GENETICKÝ POHLED NA PROBLEMATIKU



Rómka či Indka? (Diósi 1988)

„Nie ja som zložitý, ale vec,
o ktorom hovorím“

(Karinthy)

ŠTRUKTÚRA GÉNOV

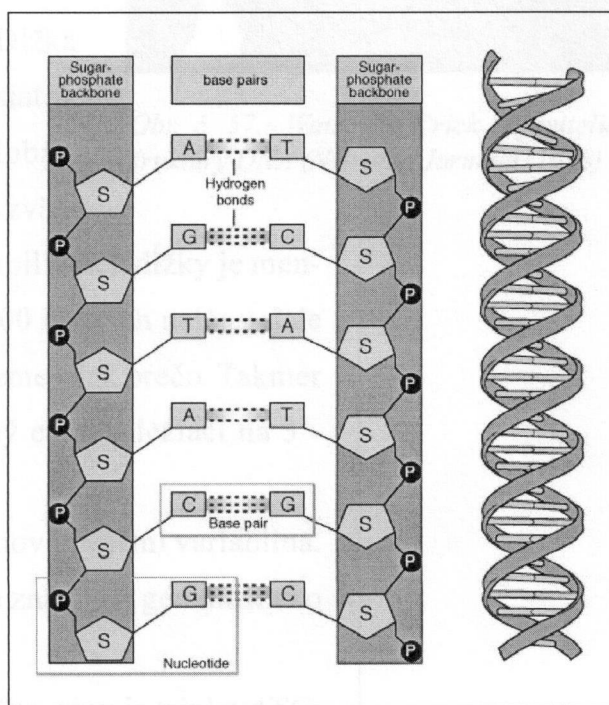
Nukleové kyseliny ako prvý izoloval Friedrich Miescher r. 1869. Svoje meno dostali podľa toho, že ich našiel v jadrách leukocytov z použitých chirurgických obväzov. Ich prítomnosť behom niekoľkých rokov sa preukázala aj v ďalších bunkách, ale trvalo až 75 rokov od ich objavu, kým sa objasnila ich biologická funkcia. V 30.- 40. rokoch bola všeobecne prijatá tzv. tetranukleotidová hypotéza, podľa ktorej nukleové kyseliny majú monotónne sa opakujúce sekvencie báz, v ktorých sa nepredpokladala žiadna genetická funkcia. V tej dobe boli gény považované za proteíny (Veot a Veotová 1995).

Trvalo istú dobu, kým sa zistilo, že gény vlastne ovládajú charakteristické črty organizmu. Bol to Archibald Garrod, ktorý ako prvý poukázal na možnú špecifickú súvislosť medzi génmi a enzýmami v súvislosti s alkaptonúriou (Ferák a Sršeň 1981).

Dnes rozpoznávame tri typy génov: *gény pre transferovú RNA*, *gény pre ribozómovú RNA* a *štruktúrne gény*. Štruk-

Objavitelia génov

Obr. č. 56.: Komplementárne spárovanie báz (Bieseher)



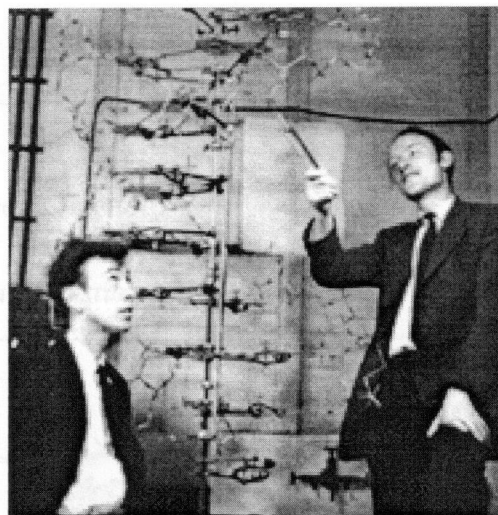
Štruktúra génov

túrny gén možno definovať ako úsek DNA kódujúci poradie aminokyselín v určitom polypeptide (génovom produkte).

U eukaryótov však nie všetky nukleotidy génu majú kódujúcu funkciu. Takmer všetky funkčné gény človeka majú svoje kódujúce sekvencie (*exóny*) prerušované nekódujúcimi úsekmi (*intrónmi*). (Výnimku tvorí napr. gén kódujúci b-interferón, ktorý je bez intrónov.) Počet aj dĺžka intrónov mimoriadne varíruje: globínové gény majú 2 intróny, no gén pre svalovú bielkovinu distrofín má najmenej 60 intrónov. Dĺžka intrónov sa pohybuje od niekoľko desiatok bazových párov až po desiatky kilobáz. Exóny, čiže kódujúce úseky génu, sú zväčša oveľa kratšie ako intróny a aj variabilita ich dĺžky je menšia. Len zriedkakedy sú dlhšie ako 600 bp a ich najčastejšie dĺžky sú 52, 140, 223 a 299 bp – nevieme však prečo. Takmer pri každom gène je najdlhší posledný exón – ležiaci na 3'-konci.

Samozrejme aj celková dĺžka génov je veľmi variabilná. Sú známe gény kratšie ako 1 kb, no je známy aj gén dlhší ako 2000 kb.

Na 5'-konci prvého exónu každého génu je triplet ATG, ktorý určuje miesto začiatku syntézy polypeptidu kódovaného príslušným génom. Na 3'-konci posledného exónu každého génu sa nachádza niektorý z tripletov TAA, TAG alebo TGA – ktoré kódujú ukončenie syntézy polypeptidu. Každý intrón začína na svojom 5'-konci invariabilnou sekvenciou GT (donorová sekvencia) a na 3'-konci končí sekvenciou



Obr. č. 57.: Watson a Crick objavitelia štruktúry DNA (Nelson a Jurmain, 1998)

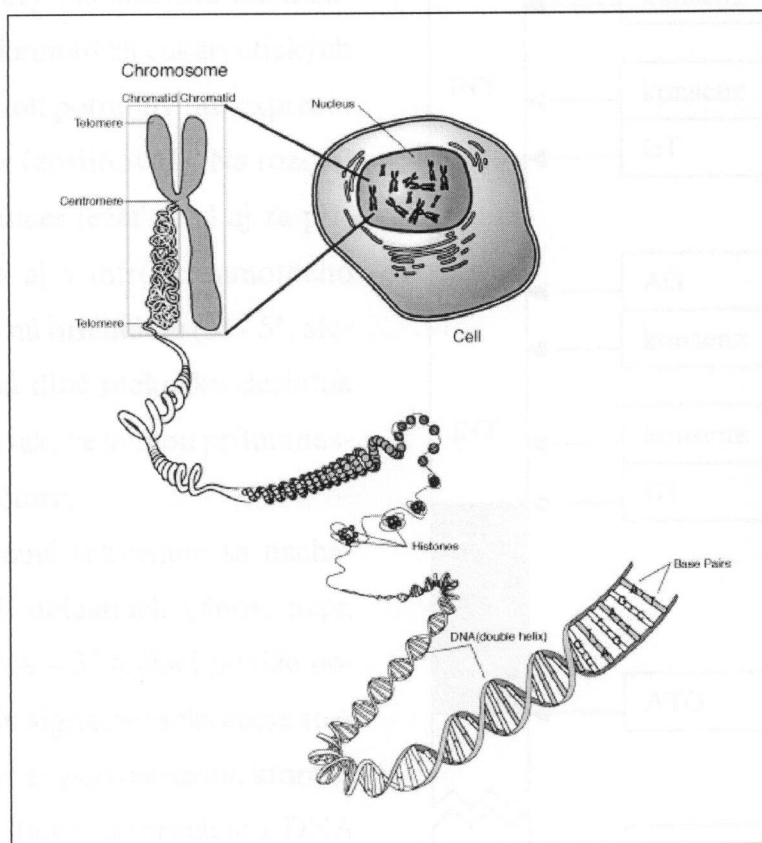
AG (akceptorová sekvencia). Tieto dva dinukleotidy sa nachádzajú na každom doteraz sekvenovanom intróne, ale ani sekvencie v ich blízkosti nie sú celkom náhodné: nie sú síce invariabilné, ale veľmi sa podobajú na seba tie sekvencie, ktoré sa nachádzajú asi 4 – 5 nukleotidov po GT a pred AG. Nazývajú sa *súhlasné (konsenzné) sekvencie*.

Takéto invariabilné a konsenzné sekvencie sa nachádzajú aj pred prvým exómom a poniže posledného exómu. Významnou sekvenciou tohto typu je tzv. *TATA-box (Hognessov box)*, súhlasná sekvencia bohatá na T a A. TATA-box leží 25 až 30 nukleotidov povyše začiatku prvého exómu mnohých génov, nie však všetkých: u konštitutívnych génov (ktorých produkty sú potrebné pre každú bunku a preto sú v každej bunke aktívne) často TATA-box

chýba a namiesto neho sa nachádza sekvencia bohatá na dinukleotid CG.

TATA-box a súhlasná sekvencia bohatá na dinukleotid CG slúžia ako signálne sekvencie, ktoré sú rozpoznávané enzýmami zodpovednými za ich expresiu.

Obr. č.58.: Lokalizácia a štruktúra DNA (Biesecher)

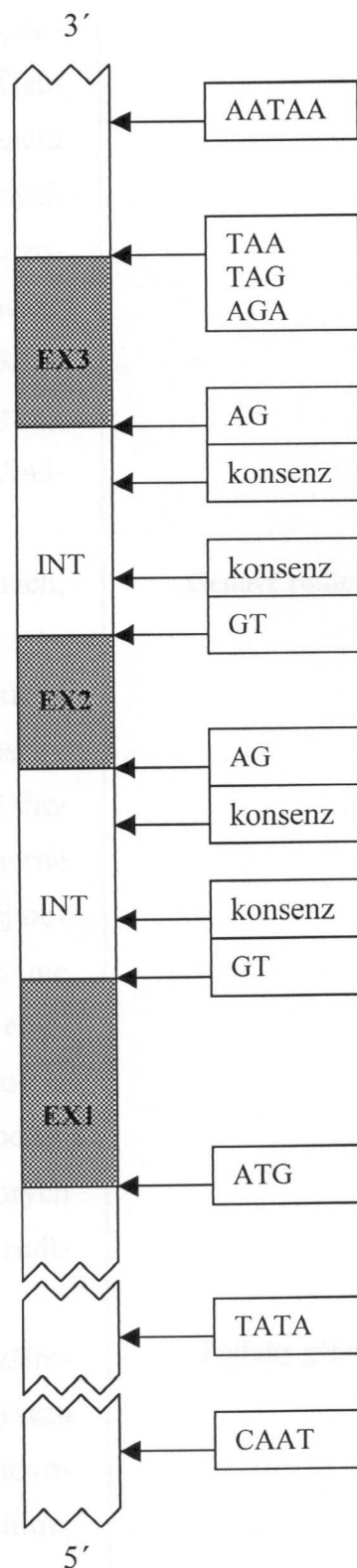


Tieto dve signálne sekvencie tvoria súčasť dôležitej oblasti, ležiacej povyš každého génu, nazývanej *promótor*. Promótor zabezpečuje, aby prepis génu do mRNA sa začal na správnom mieste a prebiehal správnym smerom. Ďalšou dôležitou zložkou promótoru je konsenzné sekvencia 5' - GGC-CAATCT - 3', ktorá má invariabilnú zložku CAAT, a označuje sa termínom *CAT-box*.

Okrem promótoru, ktorý má stabilnú lokalizáciu, nachádza sa v blízkosti mnohých eukaryotických génov ďalší sekvenčný prvok potrebný pre expresiu génu, nazývaný *enhancer* (zosilňovač). Na rozdiel od promótoru môže enhancer ležať pred aj za príslušným génom, dokonca aj v intróne samotného génu, a môže mať ľubovoľnú orientáciu (3' - 5', alebo 5' - 3'). Enhancery sú dlhé niekoľko desiatok bázových párov a pôsobia tak, že svojou prítomnosťou zvyšujú účinok promótoru.

Invariabilné a konsenzné sekvencie sa nachádzajú aj v 3'- okrajových oblastiach génov, napr. hexanukleotid 5'- AATAAA - 3' ležiaci poniže posledného exónu má funkciu signálnej sekvencie rozpoznávanej enzýmom *poly(A)-polymerázou*, ktorá sa zúčastňuje na prepise genetickej informácie z DNA do mRNA.

V blízkosti génov sa často nachádzajú ich duplikáty, ktoré sa v dôsledku mutácií počas svojej evolučnej histórie zmenili do takej miery, že sú celkom inaktívne – neutvárajú žiadny génový produkt. Nazývajú sa *pseudogény* a zdá sa, že sú veľmi bežnou



Obr. č. 59.: Štruktúra génu

súčasťou ľudského genómu. Zvláštnu kategóriu tvoria *upravené pseudogény* nazývané aj *maturované pseudogény*. Tieto neobsahujú intróny, a na svojom 3'- konci nesú sekvenciu poly(A). Nachádzame ich zväčša na miestach vzdialených od príslušných aktívnych génov, často na iných chromozómoch. Nevznikli teda, ako bežné pseudogény, duplikáciou pôvodných génov, ale spätným prepisom upravenej mRNA do DNA pomocou enzýmu reverznej transkriptázy a opätovným včlenením tejto DNA do genómu. Nemajú žiadnu biologickú aktivitu a doteraz ani známu funkciu.

Väčšina štruktúrnych génov sa vyskytuje v skupinách, ktoré sa nazývajú *génové rodiny*. Gény jednej rodiny sú sekvencne viac alebo menej homologické, nie však identické a kódujú polypeptidy so vzájomne podobnou postupnosťou aminokyselín – teda s príbuznou biologickou funkciou. Gény a pseudogény jednej rodiny sú väčšinou uložené pomerne blízko jeden vedľa druhého a v tej istej chromozómovej oblasti; niektoré rodiny sú však rozptýlené po celom genóme (napr. rodina kolagénových génov). Iné rodiny sú iba čiastočne rozptýlené (napr. rodina imunoglobulínových génov sa vyskytuje v troch samostatných zhlukoch). Génové rodiny sú charakteristické pre gény, ktoré sú funkčné len v niektorých typoch buniek alebo tkanív (konštitutívne gény génové rodiny nevytvárajú).

Istý gén môže byť medzi jedincami univerzálne rozšírený v genofonde daného druhu v úplne rovnakej podobe. Takto rozšírenej forme génu, ktorá má stálu, jedinú podobu, hovoríme *idiomorfa*. Častokrát sa však stretávame s variabilitou, ktorá je podmienená prítomnosťou niekoľkých, najmenej dvoch rôznych foriem toho istého génu. Týmto alternatív-

Génové rodiny

Podoby génov

ným formám jedného génu hovoríme *alelomorfy*, skrátene *alely*. Tie majú svoje konkrétne miesta v rámci organizácie dedičnej hmoty. Sú uložené v chromozónoch na *génových lokusoch*.

Obr. č.60.: (Sršeň a Sršňová, 1995)

Členenie génov

Podľa veľkosti sa gény zaraďujú do viacerých skupín :

1. malé gény (<10kb), napr. gény pre b-interferón, a-globín a inzulín.
2. stredne veľké gény (<50kb), napr. gény pre albumín a receptor LDL.
3. veľké gény (<100kb), napr. gén pre fenylalanínhydroxylázu
4. obrovské gény, napr. gény pre faktor VIII, cystickú fibrózu a tyreoglobulín.
5. mamutie gény, napr. gén dystrofínu .

Ak v diploidnom genóme, teda s párovou chromozomálnou i génovou výbavou je tá istá informácia dvakrát, daný jedinec je *homozygotný*. V prípade, že sú prítomné dve alely, alebo viac, okrem kombinácie rovnakých alel sa budú vyskytovať i kombinácie dvoch rôznych a príslušný jedinec bude *heterozygotný*. Ak tento stav vyjadríme na určité konkrétne miesto na chromozóme (*lokuse*), hovoríme o homozygotnom, alebo heterozygotnom genotype (Rosypal, 1998).

MUTÁCIE

Jednou zo základných vlastností genetického materiálu je jeho stálosť, na druhej strane sa však stretávame s ohromnou vnútrodruhovou genetickou variabilitou.

Z hľadiska histórie vedy je zaujímavé, že po rozlúštení chemickej štruktúry DNA ešte dlho ho považovali za veľmi stabilnú molekulu, preto spôsobilo naozaj veľké prekvapenie objav, že jeho štruktúra sa neustále mení, je dynamická. Existuje totiž obrovské množstvo vplyvov, ktoré môžu vyvolať jeho zmenu. Mutácie za normálnych podmienok pre-

Vplyv mutácie

biehajú síce nepretržite, ale len s nízkou početnosťou. Vyskytujú sa nepredvídane a možno sa o nich presvedčiť len vtedy, ak sa prejavia vo fenotype. V tejto fáze je ovplyvnený len jedinec. Populácia bude ovplyvnená novou formou alely až po dosiahnutí určitej koncentrácie tohto génu v populácii. Tieto zmeny biologického materiálu sú potrebné, pretože bez týchto dedičných zmien (*mutácií*) by neexistovala ani biologická evolúcia.

Mutáciou génu vzniká jeho alternatívna forma: alela. Každý gén môže existovať najmenej v dvoch formách a to buď ako dominantná, alebo recesívna alela. Dve alely z každého génu ležia vždy na rovnakom lokuse homológnych chromozómov. Alela, vyskytujúca sa prirodzene, vo väčšine jedincov daného druhu, predstavuje štandardnú formu (štandardnú alelu). Oproti tomu mnohonásobné alely sú varianty toho istého génu (ktoré majú aj rozličný fenotypový prejav) a vznikli mutáciami jednej východzej alely. Príznačná je aj rôzna frekvencia mutácií na rôznych lokusoch (Turňa a kol. 1990).

Samotné mutácie však nie sú jediným zdrojom nových genómových kvalít vo fylogénéze. Frekvencie alel na jednotlivých lokusoch v ľudských populáciách celkom neodrážajú mutačné frekvencie na týchto lokusoch. Na ustálenie alel nad niekoľko málo percent iba prostredníctvom mutácií by bol potrebný mnohonásobne dlhší čas, než trvá celá antro-pogénéza, nakoľko mutačná intenzita je odhadovaná na 4.4×10^{-8} na nukleotid a generáciu (Nei 1975).

Musia teda nevyhnutne existovať ďalšie mechanizmy, ktoré ovplyvňujú frekvenciu výskytu génov, ako napr. *selekcia* a *génový drift* (génový posun).

Alely

**Mutácie sú
jediným zdrojom
evolučných
zmien?**

POLYMORFIZMY

Jednou z foriem vnútro populačnej genetickej variability je *polymorfizmus DNA*, avšak nie každá variabilita v sekvencii DNA sa prejaví v génových produktoch, teda vo fenotype.

Polymorfizmus je gén existujúci vo viacerých odlišných formách (alelách) v takej frekvencii, že najzriedkavejšia z nich môže byť v populácii udržiavaná len mutáciou (Ford, 1965). Biesecker (Glossary of genetic terms) definuje genetický znak ako polymorfizmus v prípade, že na danom lokuse sa vyskytujú alely s frekvenciou vyššou než 2 %, kým Bodmer a Cavalli-Sforza (1976) pripúšťajú aj 1 %. Definícia genetického polymorfizmu takto vylučuje:

- znaky, ktorých variabilita nie je podmienená genetic-
ky (napr. infekčné choroby)
- znaky s kontinuálnou variabilitou (napr. telesné rozmery)
- znaky, kde sa rozličné varianty vyskytujú v rôznych
populáciách, nie však v rámci jednej, prirodzenej, po-
pulácie - tzv. polytypizmy (ako napr. pigmentácia kože)
- znaky, kde zriedkavý variant má v populácii početnosť
nižšiu ako 1 % (napr. dedičné choroby) (Ferák a Sršeň,
1981).

Pod pojmom polymorfizmy DNA, je potrebné chápať také zmeny DNA, ktoré sa nachádzajú v blízkosti, alebo vo vnútri príslušného génu. Evolučne najrýchlejšie dochádza k zámienam v nekódujúcich oblastiach, ktoré neparticipujú na tvorbe proteínov (van Ooyen a kol. 1976, Miyata a Yasunaga, 1980, Kimura 1980). V tom prípade vznikajú polymorf-
né restričné miesta predovšetkým v intrónoch a v okrajových sekvenciách na 5' a 3' konci génov.

**Čo sa môže pokla-
dať za polymor-
fizmus?**

**Znaky, ktoré sa
nepokladajú za
polymorfizmy**

Vďaka polymorfizmom je možné sledovať evolučnú príbuznosť medzi populáciami jedného druhu (Pérez a kol. 1991) a to tak, že sa u nich stanoví distribúcia rôznych typov polymorfnych sekvencií. Napríklad genealógia niekoľkých rôznych ľudských populácií bola objasnená na základe stanovenia prítomnosti alebo neprítomnosti istých reštrikčných miest (Voet a Voetová 1995).

Polymorfizmy môžeme klasifikovať podľa ich vzniku. Rozlišujeme tak polymorfizmy *neutrálne*, vznikajúce a udržiavané bez účasti selekcie a *selekčné*, existujúce práve v dôsledku selekcie. Kimura (1971, 1975) v sedemdesiatych rokoch publikoval hypotézu, podľa ktorej je veľká časť polymorfizmov selekčne neutrálna. Genetický polymorfizmus podľa tejto hypotézy predstavuje prechodné štádium lokusu medzi vznikom selekčne neutrálnej alely novou mutáciou a jej fixáciou v populácii prostredníctvom *driftu*. Génový drift sa v malých populáciách uplatní silno, vo veľkých slabo.

Ďalším vysvetlením vzniku genetických polymorfizmov je *superdominancia*, čiže preferencia heterozygotov. Pri tomto type selekcie stačí, aby heterozygoti pre recesívnu alelu mali nepatrnú selekčnú výhodu oproti dominantným homozygotom a frekvencia tejto alely sa bude udržiavať na nezanedbateľnej úrovni, aj keď je alela v homozygotnom stave letálna. Extrémnym prípadom je tzv. *balancovaný letálny systém*, kedy sa v populácii udržujú iba heterozygotné genotypy (Nečas a kol. 1989).

Mieru pôsobenia driftu alebo selekcie na vznik a existenciu polymorfizmov možno určiť veľmi ťažko, pričom nedá sa vylúčiť spoločné pôsobenie oboch činiteľov a samozrej-

Stanovenie genetickej príbuznosti

Klasifikácia polymorfizmov

Balancovaný letálny systém

Využitie polymorfizmov v antropológii

me nemožno zabúdať ani na mutácie, ako na ich nevyhnutný predpoklad.

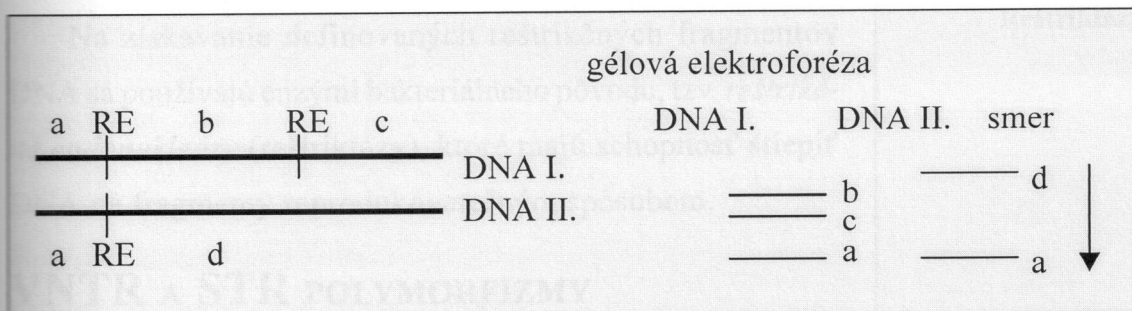
Štúdiom ľudských populácií sa zaoberá molekulárna antropológia. Rýchle napredovanie molekulárnej antropológie umožnilo zozbierať údaje o informatívnych polymorfných úsekoch DNA z rôznych populácií. Mnohé práce boli venované porovnávaniu distribúcie frekvencií alel medzi populáciami, pretože sa zistilo, že frekvencie alel niektorých genetických polymorfizmov sú medzi populáciami signifikantne rozdielne.

Použitím týchto polymorfizmov (porovnaním frekvencií alel v rôznych populáciách) môžeme zrekonštruovať evolučné udalosti, ktoré spájajú tieto skupiny. Náhodné vzorky rôznych proteínov indikujú, že približne 28% všetkých lokusov u ľudí je polymorfných a taký istý pomer vychádza aj u zvierat (Nelson a Jurmain, 1988). Vysoko polymorfné lokusy sledovali u zvierat: Nakamura a kol. (1987), Georges a kol. (1991), Ely a kol. (1992).

METÓDY ZAKLADAJÚCE SA NA POLYMORFIZMOCH DNA

V diagnostike DNA sa využíva skutočnosť, že niektoré gény u rôznych jedincov majú rôznu štruktúru. Tieto rozdiely sa najčastejšie nachádzajú v intrónoch génov. Sú to vlastne dĺžkové polymorfizmy, ktoré neovplyvňujú prepisované informácie, ale môžu sa vyskytnúť aj v rámci exónu – to sú tzv. sekvenčné polymorfizmy.

Polymorfizmy u zvierat

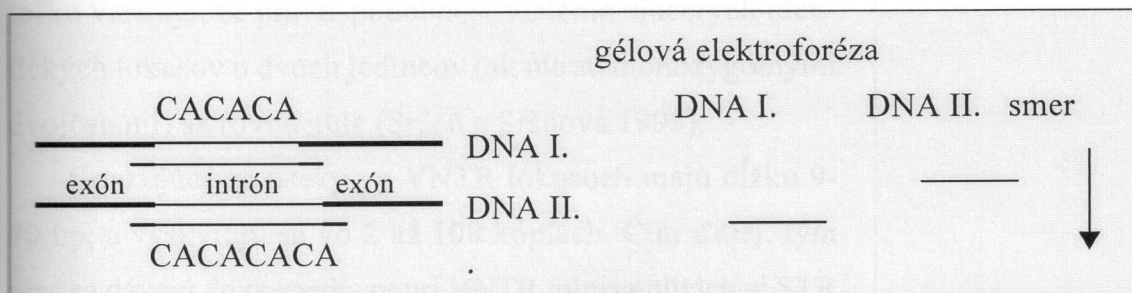


Obr. č. 61.: RFLP polymorfizmus: dôsledkom mutácie zanikne alebo vznikne nové miesto pre reštrikčné štiepenie (RE), a tak na gélovej elektroforéze po reštrikčnom štiepení oboch vlákien DNA sa objavujú fragmenty rôznych dĺžok.

RFLP

Najrozšírenejšia diagnostická metóda zakladajúca na polymorfizmoch DNA vychádza z *dĺžkových polymorfizmov reštrikčného fragmentu* (restriction fragment length polymorphism - RFLP). V tomto prípade dva porovnávané DNA-úseky sa líšia dĺžkou fragmentov získaných vplyvom pôsobenia rovnakého reštrikčného enzýmu. (Obr. č. 61.) Reštrikčné enzýmy štiepia DNA na krátke fragmenty s dĺžkou do 50-tisíc párov báz. Prípadné mutácie znemožňujú štiepenie na typických miestach alebo spôsobujú štiepenie na iných miestach. Takto vzniká variabilita dĺžky získaných úsekov. Tieto mutácie väčšinou sa neprejavujú vo fenotype, ale nimi vytvorený polymorfizmy slúžia ako markery DNA.

**Dĺžkový
polymorfizmus
reštrikčného
fragmentu**



Obr. č. 62.: Znáznornenie dĺžkového polymorfizmu VNTR v intróne génu.

Na získavanie definovaných reštrikčných fragmentov DNA sa používajú enzými bakteriálneho pôvodu, tzv. *reštrikčné endonukleázy* (reštriktázy), ktoré majú schopnosť štiepiť DNA na fragmenty reprodukovateľným spôsobom.

VNTR A STR POLYMORFIZMY

VNTR - variable number of tandem repeats (staršie označenie: hypervariabilné oblasti - HVR) sú oblasti, v ktorých sa nachádzajú rodiny tandemovo repetitívnych sekvencií s rozličným počtom opakovaní určitých sekvencií (Obr. č. 62.). Variabilita dĺžky týchto oblastí v DNA je odrazom počtu opakovaní týchto úsekov. Čím viac opakovaní, tým je celý fragment DNA dlhší. Ľudský genóm obsahuje stovky takýchto vysoko polymorfných segmentov, ktoré sú rozptýlené po celom genóme (Jeffreys a kol. 1985; Nakamura a kol. 1987).

Podľa dĺžky opakujúcich sa úsekov rozoznávame mikrosatelity (s dĺžkou menej ako 1 kb) nazývané aj STR oblasti (*short tandem repeats*), minisatelity (1-30 kb) a makrosatelity (viac ako 30 kb) (Pál, 1997).

Hoci o funkcii VNTR sa zatiaľ vie len veľmi málo, majú veľký význam pri štúdiu intrapopulačných a extrapopulačných rozdielov. Okrem toho sa využívajú aj v kriminalistike pri identifikácii jedincov, pretože dĺžka VNTR úsekov natoľko varíruje, že pravdepodobnosť zistenia viacerých identických lokusov u dvoch jedincov (ak nie sú monozygotnými dvojčatami) sa rovná nule (Sršeň a Sršňová 1995).

Opakujúce sa úseky vo VNTR lokusoch majú dĺžku 9-70 bp, a vyskytujú sa vo 2 až 100 kópiách. Čím ďalej, tým viac sa dávajú do popredia popri VNTR minisatelitách aj STR mikrosatelity, v ktorých sa opakujú 2-7 bp motívy 2-50-krát.

Reštriktázy

Variabilná dĺžka opakujúcich sa častí

Využitie VNTR

STR mikrosatelity sú krátke (najčastejšie 100-350 bp dlhé) úseky, a preto sa dajú identifikovať aj v menej zachovanom biologickom materiáli s fragmentovanou DNA. Ďalšou výhodou STR lokusov je, že multiplex-PCR metódou je možné sledovať naraz viacero lokusov.

GENETIKA POPULÁCIÍ

Náhodné zmeny génových frekvencií sa uplatňujú predovšetkým v malých populáciách, pretože je genofond každej generácie tvorený iba malým počtom gamét zdedených od predchádzajúcich generácií. Čím menšia je populácia, tým viac je pravdepodobné, že génové frekvencie v nasledujúcej generácii budú iné ako v predchádzajúcej. V tomto prípade hovoríme o *génovom posune* (genetický drift, Wrightov efekt). Génový posun má nepredvídateľný účinok, pretože je to akumulácia náhodných zmien génových frekvencií v malých populáciách v priebehu generácií (Ferák a Sršeň 1981).

Ak sa veľká populácia rozdelí na malé subjednotky, nové subpopulácie sa budú líšiť od seba ale aj od originálnej populácie v závislosti na fyzikálnych črtách a na kombináciách genetických lokusov ktoré tieto črty kódujú: Ak stanovíme priemernú výšku členov istej skupiny na 170 cm v rozmedzí od 155 do 189 cm, potom rozdelíme túto skupinu náhodne, bez zohľadnenia výšky, priemerná výška nových skupín nebude ako v originálnej skupine. Tento efekt sa prejavuje hlavne pri nerovnomernom rozdelení pôvodnej skupiny – keď sa oddelí 10 % populácie. Je prakticky nemožné, aby v tých 10 %-ách boli zastúpené všetky génové kombinácie aké pôvodne existovali. Znaky, ktoré sa uplatnia viac, spôsobia ge-

Krátke tandemové opakovania

Genetika malých populácií

Vznik génového posunu

netický posun - tento jav sa nazýva efekt zakladateľa (Feder a Park 1989).

Druhá možnosť uplatnenia genetického posunu je pri *crossing overi* keď genetický materiál oboch rodičov sa mieša. Potenciálne číslo nových genetických kombinácií je nesmierne vysoké. Preto medzi generáciami rodičov a potomkov sa môžu udiť veľké zmeny, hlavne keď nové genetické kombinácie sú selekčne indiferentné, pretože vtedy posun môže nastať v hociktorom smere (Feder a Park 1989).

Ak malá populácia (v ktorom nastal genetický drift) v priebehu ďalších generácií zväčší svoj rozsah, náhodné kolísanie génových frekvencií sa zmenší a zmenená frekvencia génu sa zafixuje. Tento typ génového posunu – tzv. *efekt zakladateľa* (founder effect) – sa pokladá za najpravdepodobnejšie vysvetlenie mimoriadne vysokých frekvencií niektorých recesívne dedičných ochorení v populáciách, ktoré sú teraz síce dosta-

Obr. č. 63.: (Bodmer a Cavalli-Sforza 1976)

točne rozsiahle, ale vznikli z početne malých celkov. Predpokladom rozšírenia týchto znakov je genetická izolácia populácie, ako napr. niektoré malé dediny v Alpách, ktoré majú zvyčajne vysoké

frekvencie albinizmu, alebo ostrov v južnom Atlantiku Tristan da Cunha, kde je nezvyčajne vysoký výskyt dedičných očných chorôb (Nelson a Jurmain 1988).

Efekt zakladateľa

Ostrov Tristan da Cunha

Prvá škótska rodina usadená r. 1817 na tomto ostrove vytvorila zakladateľskú populáciu. Dnešné obyvateľstvo pochádza len z tejto rodiny a z niekoľkých málo imigrantov – stroskotáných námorníkov. Na populácii tohto ostrova boli vykonané rozsiahle genetické testy, čo odhalilo, že jeden z pôvodných zakladateľov bol nositeľom veľmi zriedkavého génu *retinitis pigmentóza* v heterozygotnej forme a odovzdal to svojim potomkom. Tento nositeľ (zakladateľ) zapríčinil disproporčný pomer výskytu tohto génu v ďalších generáciách.

Zmeny v štruktúre populácií môže spôsobovať aj *migrácia*. Migráciou časti istej populácie sa mení iba genofond tej populácie, do ktorej migrácia nastala. Táto populácia sa stáva potom zmiešanou populáciou.

Medzi faktory ovplyvňujúce vývoj populácií patrí aj *príbuzenské kríženie* (inbríding). Z genetického hľadiska sa pokladajú za navzájom príbuzných jedinci, ktorí majú aspoň jedného spoločného predka. V praxi sa však hovorí o príbuznosti len vtedy, keď spoločný predok nie je vzdialený viac ako 4-5 generácií. *Bernsteinov-Wrightov zákon* o rozložení genotypov v inbrídných populáciách ukazuje, že v porovnaní s panmiktickou populáciou v takýchto populáciách je zvýšená frekvencia homozygotov a znížená frekvencia heterozygotov. Dlhodobé pôsobenie inbrídingu nie je *pre populáciu* škodlivé, lebo uľahčuje alelám zodpovedným za recesívne a multifaktoriálne ochorenia dostať sa do homozygotného stavu, v ktorom voči nim pôsobí selekcia. Tým sa urýchljuje ich eliminácia z populácie (Ferák a Sršeň, 1981).

Málopočetné izolované populácie nadobúdajú endogamný charakter a zákonite v nich dochádza k príbuzenskému kríženiu, inbrídingu. Vplyvom inbrídingu sa zmenia genotypové frekvencie, ale génové frekvencie zostávajú nezmenené. Inbríding teda sám o sebe nemení génové frekvencie v populácii a ovplyvňuje iba usporiadanie génov. Zmenšuje frekvenciu heterozygotov a zväčšuje frekvenciu homozygotov. Zvyšovanie početnosti homozygotov je tým výraznejšie, čím nižšia je populačná frekvencia príslušnej alely (Ferák a Sršeň, 1981).

Kým mutácie ako zdroj genetickej variability sú podkladom pre evolúciu, *selekcia* je vlastne jej hybnou silou. Se-

Migrácia

Príbuzenské kríženie

Vplyv inbrídingu na génové frekvencie

Selekcia

lekciou (prírodným výberom) sa rozumie stav, keď jedinci s rozličnými fenotypmi alebo genotypmi majú v priemere nerovnaký počet potomstva.

IZOLOVANÉ POPULÁCIE

Pojmom *izolát* sa označuje početne ohraničená populácia, ktorá je reprodukčne izolovaná od svojho okolia. Ľudské izoláty vznikajú v podstate z dvoch hlavných príčin: geografických a sociálnych.

Izoláty mali v minulosti dôležitejšiu úlohu ako teraz. Celá evolúcia človeka na predhumánnom stupni sa uskutočňovala prostredníctvom izolátov, a to zvyčajne izolátov veľmi malých, v ktorých mohol mať významnú úlohu genetický drift. Takto sa mohli prostredníctvom izolátov formovať ľudské rasy a etnické skupiny. Teda nie všetky znaky, ktorými sa jednotlivé ľudské etniká od seba odlišujú, sú výsledkom genetického prispôsobenia sa k prostrediu (t.j. selekcie); mnohé je potrebné pripísať na vrub driftu uplatňujúcemu sa v malých, dlhodobo izolovaných populáciách (Ferák a Sršeň 1981).

V genetike sú obzvlášť dôležité izoláty s malou efektívnou veľkosťou, izolované po mnoho generácií. Ak sa veľká panmiktická populácia rozdelí na malé subjednotky – izoláty – vplyvom Wrightovho efektu budú v jednotlivých izolátoch po istom počte generácií ich vzájomnej izolovanosti odlišné

Obr.č.64.: (Ferák a Sršeň 1981)

Izoláty

Geografické izoláty sú pomerne časté, ale dnešný explozívny rozvoj komunikácií vedie k ich rýchlemu rozpadu. Nachádzame ich na ostrovoch, v oázach a v obciach vo vysokohorských údoliach, atď.

Sociálne izoláty na rozdiel od geografických, môžu byť disperzné, rozptýlené v ostatnej populácii, ale reprodukčne od nej ohraničené. Medzi najdôležitejšie sociálne faktory izolácie patrí náboženstvo, etnická príslušnosť, reč, národnosť, kultúrna tradícia, sociálna diferenciácia, v niektorých oblastiach kasta, atď.

Walhundov efekt

frekvencie jednotlivých génov – tým odlišnejšie, čím menšia je efektívna veľkosť izolátov. Táto interpopulačná variácia génových frekvencií sa nazýva *Wahlundova variácia*. Populácia s Wahlundovou variáciou nie je panmiktická (hoci v rámci každej jej subjednotky môže byť panmixia zachovaná), preto nie sú genotypové frekvencie v takejto populácii rozložené podľa Hardyho-Weinbergovho zákona. Zvýši sa v nej početnosť homozygotov a to aj bez pričinenia inbrídingu (Ferák a Sršeň 1981).

Tri činitele, ktoré sa uplatňujú v izolátoch – Wahlundov efekt, Wrightov efekt a inbríding – pôsobia nezávisle od seba a všetky tri zapríčiňujú zvyšovanie početnosti homozygotov a znižovanie početnosti heterozygotov.

**3 hlavné činitele
uplatňujúce sa
v izolátoch**

GENETIKA RÓMSKEJ ETNICKEJ SKUPINY

Rómske etnikum na Slovensku tvorí sociálny izolát izolovaný od ostatného obyvateľstva svojou etnickou príslušnosťou, kultúrou a rečou. Ale toto na prvý pohľad jednotné etnikum je vnútorne rozčlenené na jednotky, ktoré sú od seba izolované – delia ich pevné bariéry, ktoré majú pôvod pravdepodobne v sociálnej štruktúre indickej spoločnosti, štruktúre kást, ktoré majú charakter endogamných skupín (Suchý 1968). Ale uzatváranie manželstiev v rámci skupiny bolo charakteristické aj pre Európanov, kde sa sobášili jedinci rovnakého (podobného) spoločenského postavenia (endogamia v rámci aristokracie, remeselníkov, sedliakov). Takýto postup pri uzatváraní manželstiev pri dostatočnej veľkosti populácie nemá postrehnuteľný vplyv, ale v rámci malých izolátov vedie ku pokrvne príbuzným (konsangvinálnym) manželstvám, čo je charakteristické aj pre veľkú väčšinu dnešných indických populácií. V rómskej populácii môžeme sledovať podobný jav, čo im zabránilo v asimilácii do európskej spoločnosti, ale aj

splynutiu jednotlivých rómskych skupín do jedného celku.

Dávidová-Turčinová delí Rómov z etnografického a sociologického hľadiska - podľa tradičného spôsobu života do troch skupín: „olašský“ (va-

Obr. č. 65.: (Dávidová-Turčinová 1970, 1972)

Skupiny Rómov na Slovensku

1. **Rómovia olašský (valašský)**, ktorí až do vydania zákona č. 74 z roku 1958 žili kočovným spôsobom života, pretrvávajúci v iných formách až dodnes. Prišli k nám z Rumunska, z bývalého kniežatstva Valašsko. Patria sem predstavitelia rómskych extenzívnych rodín (tzv. veľkorodín). Predstavujú iba 5% celej rómskej populácie Slovenska.
2. **Polousadlí Rómovia**, ktorí často menili svoje bydliská a zamestnania. Po roku 1945 sa usadili najmä na východnom Slovensku.
3. **Usadlí Rómovia**, ktorí zaberajú najväčšiu časť našej rómskej etnickej skupiny.

lašský) Rómovia, polousadlí Rómovia a usadlí Rómovia. Nápadná odlišnosť súboru olašských Rómov od ostatných dvoch skupín je daná pomerne vysokým zastúpením rutilných vlasov, čo sa dá vysvetliť skutočnosťou, že ide o populáciu vysoko inbrídnú, v ktorej možno očakávať vzostup homozygotov a mohol sa tu uplatniť aj efekt zakladateľa (Siváková a Hlúbiková 1991).

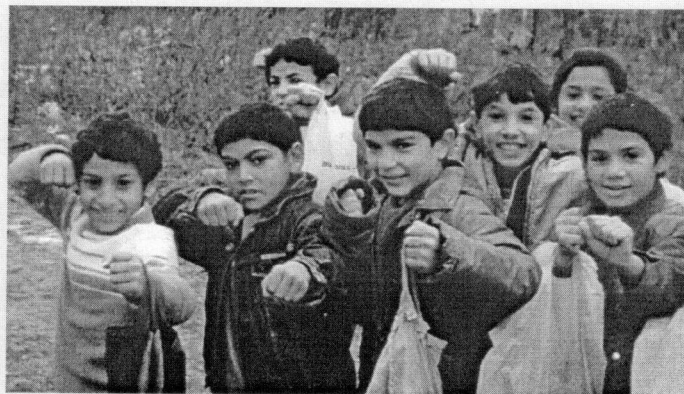
Na základe výskumov profesora Bernasovského (1994b) pre rómsku populáciu platí, že genofond súčasnej rómskej populácie v Európe sa odlišuje od majoritnej európskej populácie. Genetická variabilita súčasnej rómskej populácie je veľmi veľká a zdá sa byť väčšia ako u porovnávaných nerómskych populáciách (Obr. č. 175.).

Štúdie o genetických polymorfizmoch v rôznych rómskych populáciách žijúcich na našom území, ktoré nezohľadňovali subetnickú klasifikáciu, potvrdila podľa očakávania, že ich genofond sa v značnej miere odlišuje od okolitej nerómskej populácie a zistené génové frekvencie v jednotli-

Obr. č. 66.:

Expanzia Rómov

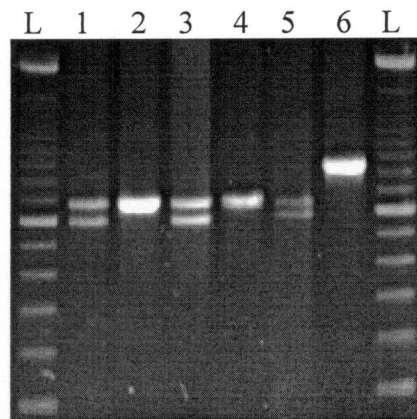
Rómske etnikum je jedinou zložkou našej populácie, ktorá ešte expanduje (podiel detí v rámci rómskeho obyvateľstva je až 46,6%). Zatiaľ čo ostatného obyvateľstva pribúda vzhľadom na malú pôrodnosť len nepatrne, u Rómov prebieha populačná explózia, podobne ako u mnohých mimoeurópskych národov v krajinách tretieho sveta, kde sa zlepšila výživová a hygienicko-epidemiologická situácia (Bernasovský, Bernasovská 1996).



vých sledovaných systémoch sú podobné frekvenciám v niektorých indických populáciách.

Tieto tézy potvrdzujú aj práce profesora Bernasovského (Bernasovský 1994a, Bernasovský a kol. 1976b,c.), ale aj práce iných autorov, ako publikácie profesorky Sivákovej (Siváková a kol. 1994), Juríčkovej (Juríčková a kol. 1993a,b, 1994, 1996), Bernasovskej (Bernasovská a kol. 1998) a Beneša (1974) ktoré tiež poukazujú na podobnosť Rómov s indickým obyvateľstvom.

Využitím genealogických metód Poráčová a kol. (2002) sledovali výskyt vrodených mentálnych porúch v rómskej populácii. Výskum dedičných ochorení v takýchto izolovaných populáciách môže rovnako prisniť nové poznatky o pôvode Rómov. Tejto problematike sa venovali Hunter a kol. (2002).



Obr. č. 67.: DNA fragmenty lokusu ApoB zviditeľnené ethidium bromidom pod UV svetlom na agarózovom géle. L – rebrík, 1-5 – vzorky.

MATERIAL

Vzorky použité na výskum STR a VNTR pochádzajú z rôznych miest v Maďarsku a v Moldave nad Bodvou, čo je malé miestčko vzdialené 30 km od Kalló na západe. Rómske komunita tu má dlhú tradíciu, a žije pomerne izolovaným spôsobom života. Zo súboru sme vyberali hlavne príbuzenské vzťahy, t.j. vzorky súrodencov, a určte vekové rozpätie vzorkovníka.

Do súboru započítali vzorky z rôznych vzťahov z j. d. Do súboru započítali Rómovi, ktorí sa narodili v roku 2001. Získali sme izolovať DNA z krvi a v kapiláre.

V porovnaní s inými vzorkami z Maďarska a v Moldave nad Bodvou.

Podľa podobných výsledkov z Maďarska a v Moldave nad Bodvou. Tieto 17 vzorky boli vybrané z Maďarska výskyt frekvencií VNTR lokusov. Výsledky sú uvedené v tabuľke Výsledky a v kapitole Rómska komunita v porovnaní s inými vzorkami z Maďarska a v Moldave nad Bodvou. Získali sme izolovať DNA z krvi a v kapiláre.

VÝSLEDKY

(FREKVENCIE VNTR A STR LOKUSOV)

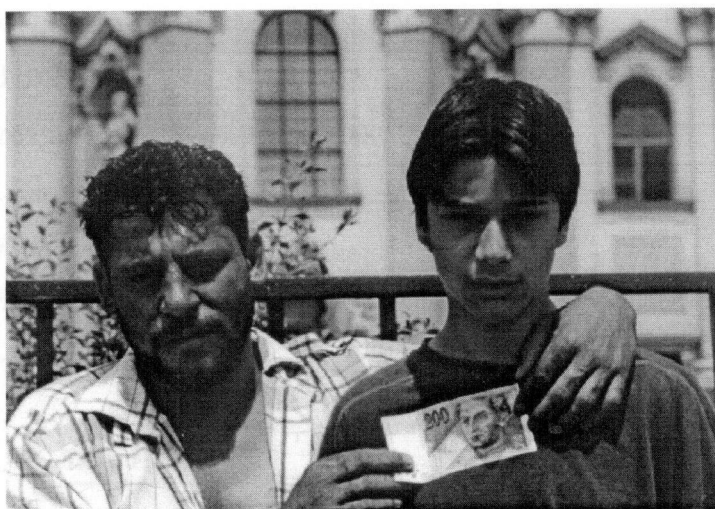


Primáš z obce Seňa (okr. Košice-okolie), 2002

MATERIÁL

Vzorky použité na výskum STR a VNTR polymorfizmov sme získavali od Rómov žijúcich v Moldave nad Bodvou, čo je malé mestečko ležiace 30 km od Košíc na západ. Rómska komunita tu má dlhú tradíciu, a žije geneticky pomerne izolovaným spôsobom života. Zo súboru sme vylúčili blízke príbuzenské vzťahy, t.j. nezahrnuli sme vzorky súrodencov, a úzke vekové rozpätie vytvoreného súboru napomáhalo tiež vylúčeniu výskytu viacerých vzoriek z jednej rodiny. Do súboru boli zaradení Rómovia s dátumom narodenie od 1983 do 2001. Získali sme 45 vzoriek rómskej krvi, z čoho sa podarilo izolovať DNA v 42 prípadoch. Zistené frekvencie sú uvedené v kapitole Výsledky a v kapitole Rómska populácia v porovnaní s inými populáciami.

Podľa podobných kritérií boli získavané aj vzorky Rómov žijúcich v Medzeve, čo je malé mestečko neďaleko Košíc, a obec Jasov sa nachádza blízko nej. Týchto 57 vzoriek bolo vyšetrených z hľadiska výskytu frekvencií VNTR lokusov. Výsledky sú uvedené v kapitole Výsledky a v kapitole Rómska populácia v porovnaní s inými populáciami pri lokusoch ApoB, D1S80, Col2A1 a D17S5 spolu s výsledkami súboru z Moldavy nad Bodvou.



Obr. č. 69.: Rómovia z obce Jasov (okr. Košice-okolie), 2000

VÝSLEDKY

Nasledujúce tabuľky (Obr. č. 71. až 97.) uvádzajú zistené frekvencie jednotlivých alel.

VNTR LOKUSY

VNTR lokusy boli sledované v súbore Rómov z Moldavy nad Bodvou a v súbore Rómov z Medzeva a Jasova. Sledovali sme 4 VNTR lokusy: ApoB, D1S80, D17S5 a Col2A1.

V prípade lokusu ApoB bolo zistených 14 alel, a to alely 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48 a 50. Alely boli označené nomenklatúrnym systémom podľa Ludwiga a kol. (1989). Dĺžka repetitívnych sekvencií v prípade lokusu ApoB sa pohybuje medzi 540 bp (alela 24) a 900 bp (alela 50). Najfrekventovanejšími alelami boli 36 a 34. Počet a frekvencie alel uvádza Obr. č. 71. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 72.

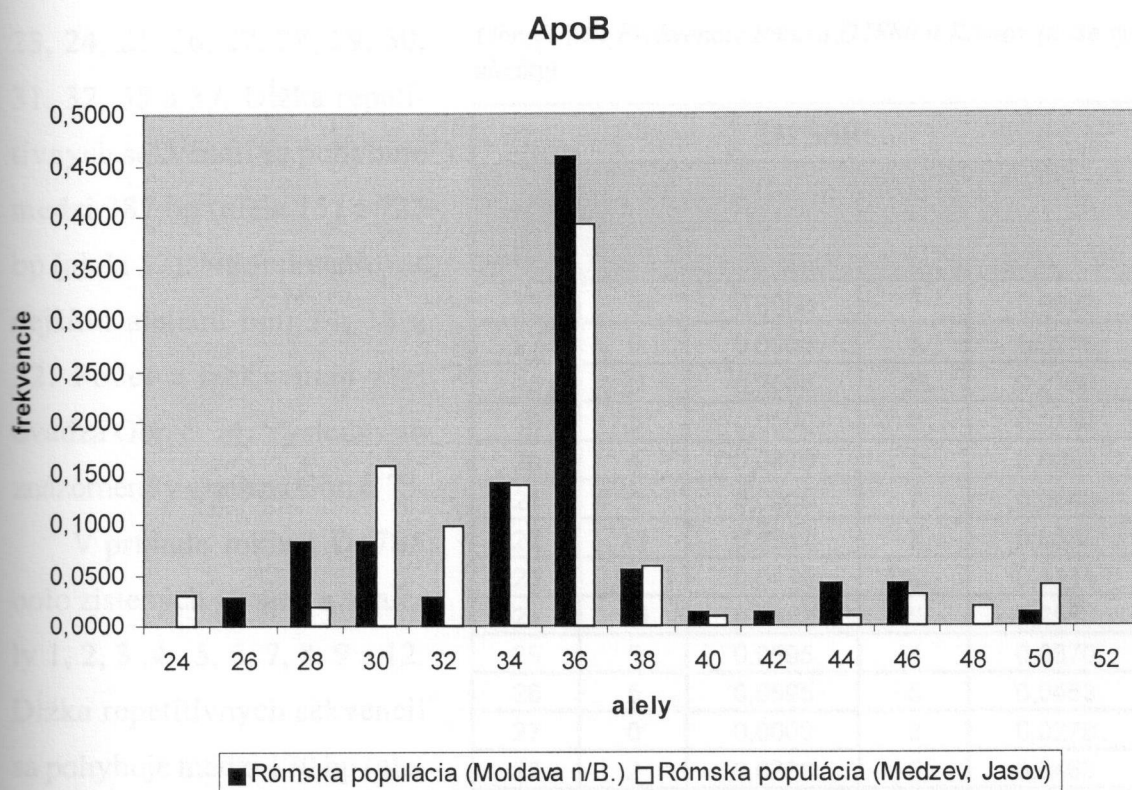
V prípade lokusu D1S80 bolo zistených 19 alel, a to alely 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22,

Lokus	Lokalizácia lokusu
ApoB	1p36-p35
D1S80 (pMCT118)	2p24-p23
D17S5 (YNZ22)	12q13.1
Col2A1	17q13.3

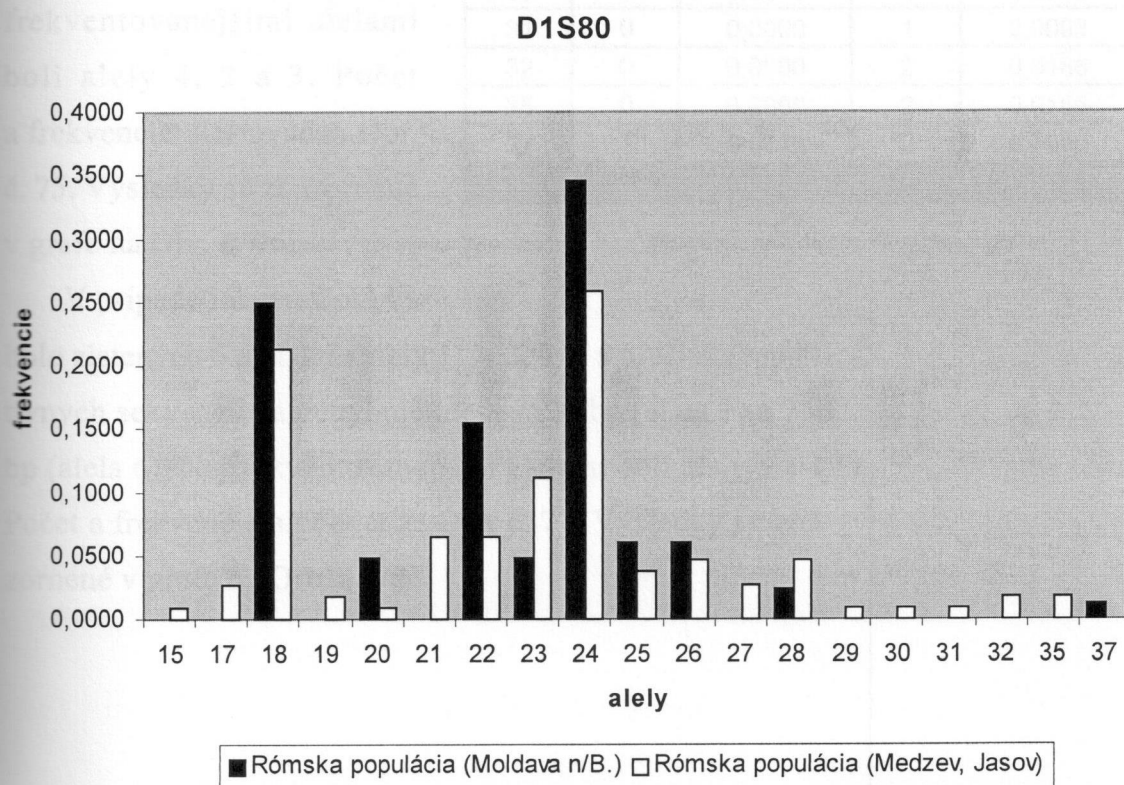
Obr. č. 70.: Lokalizácia sledovaných VNTR lokusov na jednotlivých chromozónoch

Obr. č. 71.: Frekvencie lokusu ApoB u Rómov (naše výsledky)

ApoB				
Názov alely	Moldava n/B.		Medzev, Jasov	
	Počet	Frekvencie	Počet	Frekvencie
24	0	0,0000	3	0,0294
26	2	0,0278	0	0,0000
28	6	0,0833	2	0,0196
30	6	0,0833	16	0,1569
32	2	0,0278	10	0,0980
34	10	0,1389	14	0,1373
36	33	0,4583	40	0,3922
38	4	0,0556	6	0,0588
40	1	0,0139	1	0,0098
42	1	0,0139	0	0,0000
44	3	0,0417	1	0,0098
46	3	0,0417	3	0,0294
48	0	0,0000	2	0,0196
50	1	0,0139	4	0,0392
52	0	0,0000	0	0,0000
spolu:	72	1,0001	102	1,0000



Obr. č. 72.: Frekvencie lokusu ApoB u Rómov (naše výsledky)



Obr. č. 73.: Frekvencie lokusu D1S80 u Rómov (naše výsledky)

23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 35 a 37. Dĺžka repetitívnych sekvencií sa pohybuje medzi 387 bp (alela 15) a 723 bp (alela 37). Najfrekventovanejšími alelami boli 24, 18 a 22. Počet a frekvencie alel uvádza Obr. č. 74. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 73.

V prípade lokusu D17S5 bolo zistených 10 alel, a to alely 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 a 12. Dĺžka repetitívnych sekvencií sa pohybuje medzi 170 bp (alela 1) a 940 bp (alela 12). Najfrekventovanejšími alelami boli alely 4, 2 a 3. Počet a frekvencie alel uvádza Obr. č. 75. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 76.

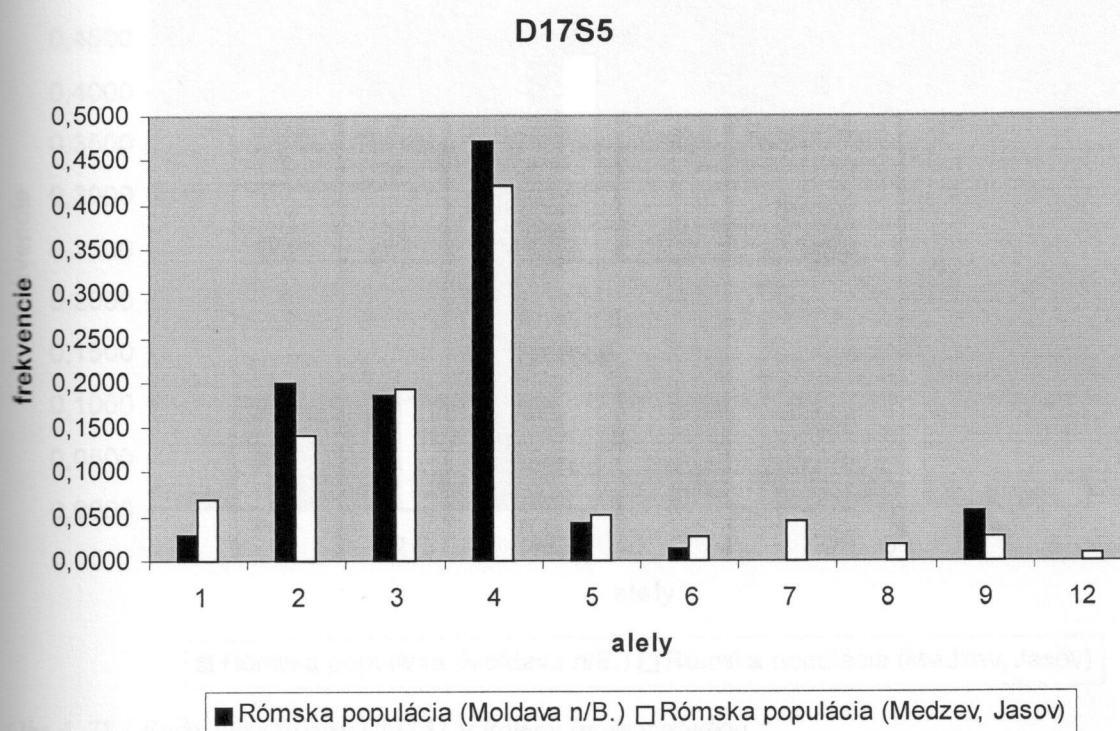
V prípade lokusu Col2A1 bolo zistených 6 alel, a to alely 1, 2, 3, 4, 5 a 6. Dĺžka repetitívnych sekvencií sa pohybuje medzi 590 bp (alela 1) a 750 bp (alela 6). Najfrekventovanejšími alelami boli alely 3 a 4. Počet a frekvencie alel uvádza Obr. č. 77. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 78.

Obr. č. 74.: Frekvencie lokusu D1S80 u Rómov (naše výsledky)

D1S80				
Názov alely	Moldava n/B.		Medzev, Jasov	
	Počet	Frekvencie	Počet	Frekvencie
15	0	0,0000	1	0,0093
17	0	0,0000	3	0,0278
18	21	0,2500	23	0,2130
19	0	0,0000	2	0,0185
20	4	0,0476	1	0,0093
21	0	0,0000	7	0,0648
22	13	0,1547	7	0,0648
23	4	0,0476	12	0,1111
24	29	0,3452	28	0,2593
25	5	0,0595	4	0,0370
26	5	0,0595	5	0,0463
27	0	0,0000	3	0,0278
28	2	0,0238	5	0,0463
29	0	0,0000	1	0,0093
30	0	0,0000	1	0,0093
31	0	0,0000	1	0,0093
32	0	0,0000	2	0,0185
35	0	0,0000	2	0,0185
37	1	0,0119	0	0,0000
spolu:	84	0,9998	108	1,0000

Obr. č. 75.: Frekvencie lokusu D17S5 u Rómov (naše výsledky)

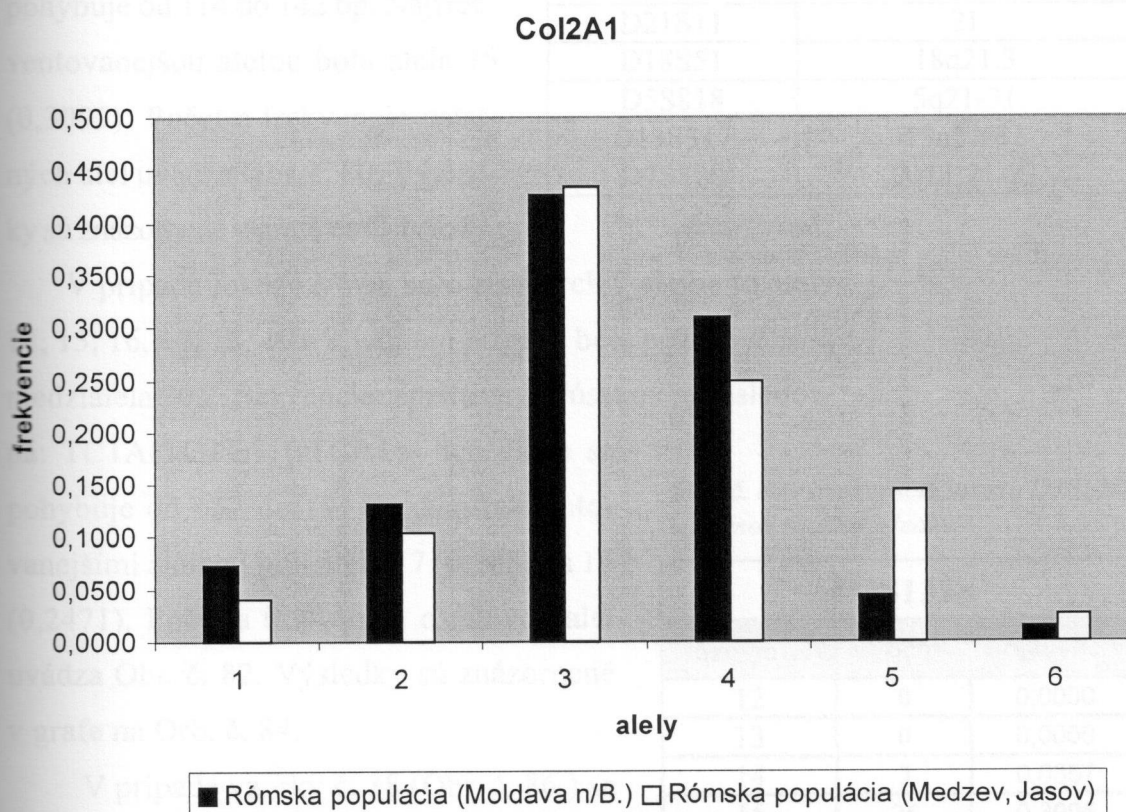
D17S5				
Názov alely	Moldava n/B.		Medzev, Jasov	
	Počet	Frekvencie	Počet	Frekvencie
1	2	0,0286	8	0,0702
2	14	0,2000	16	0,1404
3	13	0,1857	22	0,1930
4	33	0,4714	48	0,4211
5	3	0,0429	6	0,0526
6	1	0,0143	3	0,0263
7	0	0,0000	5	0,0439
8	0	0,0000	2	0,0175
9	4	0,0571	3	0,0263
12	0	0,0000	1	0,0088
spolu:	70	1,0000	114	1,0000



Obr. č. 76.: Frekvencie lokusu D17S5 u Rómov (naše výsledky)

Obr. č. 77.: Frekvencie lokusu Col2A1 u Rómov (naše výsledky)

Col2A1				
Názov alely	Moldava n/B.		Medzev, Jasov	
	Počet	Frekvencie	Počet	Frekvencie
1	5	0,0735	3	0,0395
2	9	0,1324	8	0,1053
3	29	0,4265	33	0,4342
4	21	0,3088	19	0,2500
5	3	0,0441	11	0,1447
6	1	0,0147	2	0,0263
spolu:	68	1,0000	76	1,0000



Obr. č. 78.: Frekvencie lokusu Col2A1 u Rómov (naše výsledky)

STR LOKUSY

STR polymorfizmy boli sledované v súbore Rómov z Moldavy nad Bodvou. Sledovali sme 9 STR lokusov: D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 a D7S820.

V prípade lokusu D3S1358 bolo zistených 6 alel, a to alely 14, 15, 16, 17, 18 a 19. Sekvencia repetitívnych úsekov je nasledovná: TC-TA(TCTG)₁₋₃(TCAT)_n, ich dĺžka sa pohybuje od 114 do 142 bp. Najfrekvencovanejšou alelou bola alela 15 (0,3095). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 80. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 81.

V prípade lokusu VWA bolo zistených 7 alel, a to alely 14, 15, 16, 17, 18, 19 a v jednom prípade bola pozorovaná aj medzialela 20.2. Sekvencia repetitívnych úsekov je nasledovná: TCTA(TCTG)₃₋₄(TCAT)_n, ich dĺžka sa pohybuje od 157 do 197 bp. Najfrekvencovanejšími alelami boli alely 17 (0,3882) a 16 (0,2471). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 82. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 84.

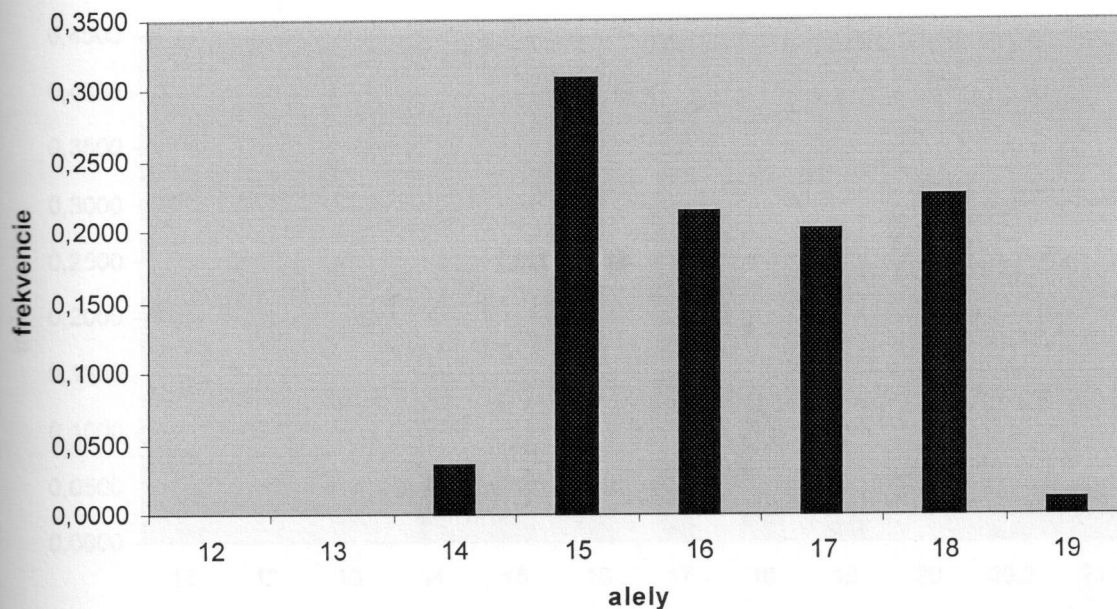
V prípade vzorky č. 38 (Obr. č. 86.) sa vyskytuje trojitá alela 16/17/20.2. Tento jav môže byť zapríčinený viacerými faktormi, najprv však musíme vylúčiť možnosť kontaminácie vzorky cudzou DNA. V prípade de-

Obr. č. 79.: Lokalizácia sledovaných STR lokusov na jednotlivých chromozómoch

Lokus	Lokalizácia lokusu
D3S1358	3p
VWA	12p12-pter
FGA	4q28
D8S1179	8
D21S11	21
D18S51	18q21.3
D5S818	5q21-31
D13S317	13q22-31
D7S820	7q11.21-22

Obr. č. 80.: Frekvencie lokusu D3S1358 u Rómov (naše výsledky)

D3S1358		
Názov alely	Počet	Frekvencia
12	0	0,0000
13	0	0,0000
14	3	0,0357
15	26	0,3095
16	18	0,2143
17	17	0,2024
18	19	0,2262
19	1	0,0119
spolu:	84	1,0000

D3S1358

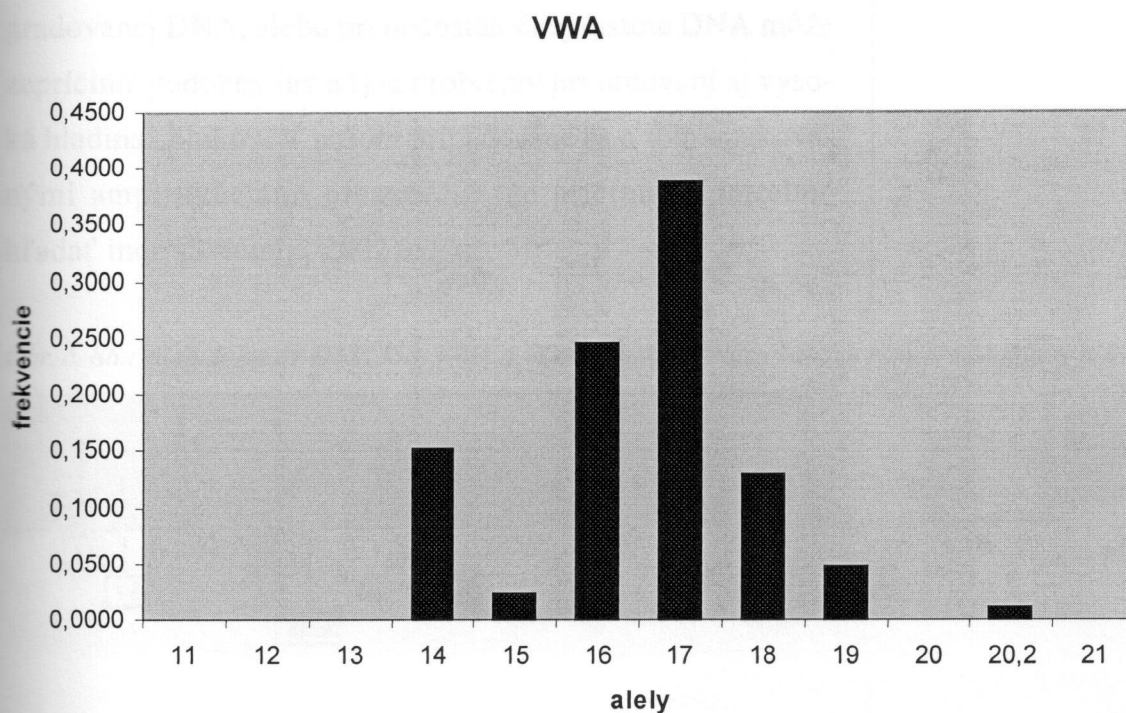
Obr. č. 81.: Frekvencie lokusu D3S1358 u Rómov (naše výsledky)

Obr. č. 82.: Frekvencie lokusu VWA u Rómov (naše výsledky)

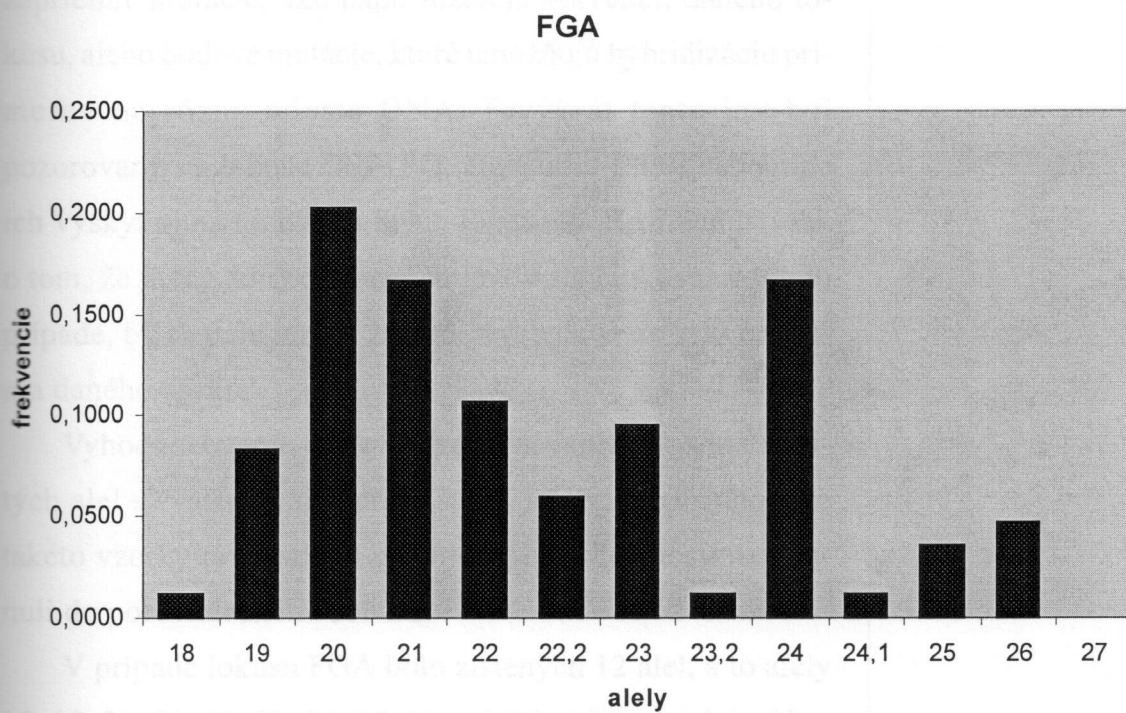
VWA		
Názov alely	Počet	Frekvencia
11	0	0,0000
12	0	0,0000
13	0	0,0000
14	13	0,1529
15	2	0,0235
16	21	0,2471
17	33	0,3882
18	11	0,1294
19	4	0,0471
20	0	0,0000
20.2	1	0,0118
21	0	0,0000
spolu:	85	1,0000

Obr. č. 83.: Frekvencie lokusu FGA u Rómov (naše výsledky)

FGA		
Názov alely	Počet	Frekvencia
18	1	0,0119
19	7	0,0833
20	17	0,2024
21	14	0,1667
22	9	0,1071
22.2	5	0,0595
23	8	0,0952
23.2	1	0,0119
24	14	0,1667
24.1	1	0,0119
25	3	0,0357
26	4	0,0476
27	0	0,0000
28	0	0,0000
29	0	0,0000
30	0	0,0000
spolu:	84	1,0000



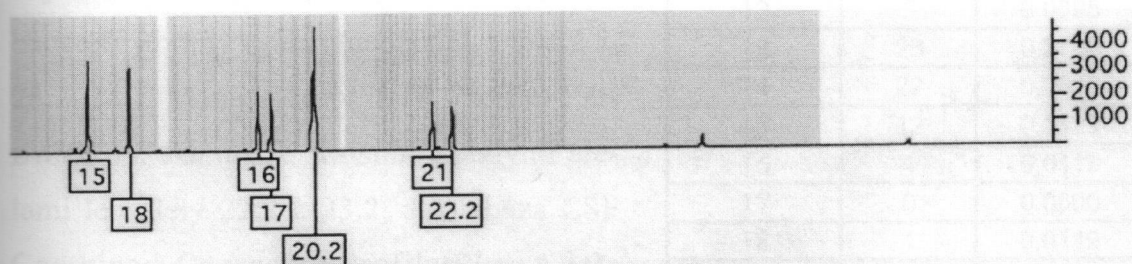
Obr. č. 84.: Frekvencie lokusu VWA u Rómov (naše výsledky)



Obr. č. 85.: Frekvencie lokusu FGA u Rómov (naše výsledky)

gradovanej DNA, alebo pri nedostatočnej čistote DNA môže zapríčiniť podobný jav a tým problémy pri určovaní aj vysoká hladina „hľuku“. V našom prípade sme sa o tom opakovanými amplifikáciami presvedčili, že príčinu je potrebné hľadať inde (Svietnik, 2002).

Obr. č. 86.: Alely lokusov D3S1358, VWA a FGA, vzorka č. 38 zo súboru rómov z Moldavy n/B.



John M. Butler vo svojej knihe *Forensic DNA typing* (2001) popisuje tento jav (*three banded patterns*), ktorú môžu zapríčiniť mutácie, ako napr. inzercia sekvencií daného lokusu, alebo bodové mutácie, ktoré umožňujú hybridizáciu primerov na rôzne miesta DNA. Prvýkrát tento jav bol pozorovaný na lokuse CSF1PO, ale Butler (2001) spomína ich výskyt aj na mnohých iných lokusoch. Rozhodnúť však o tom, že ktorý zo spomínaných javov zaúčinkoval v tomto prípade, by sa dalo len na základe výsledkov zo sekvenovania daného úseku.

Vyhodnocovanie a hlavne porovnávanie takýchto trojitých alel s výsledkami ďalších štúdií je obtiažne, preto sme takéto vzorky pri počítaní genetických vzdialeností nezahrnuli do porovnávaného súboru.

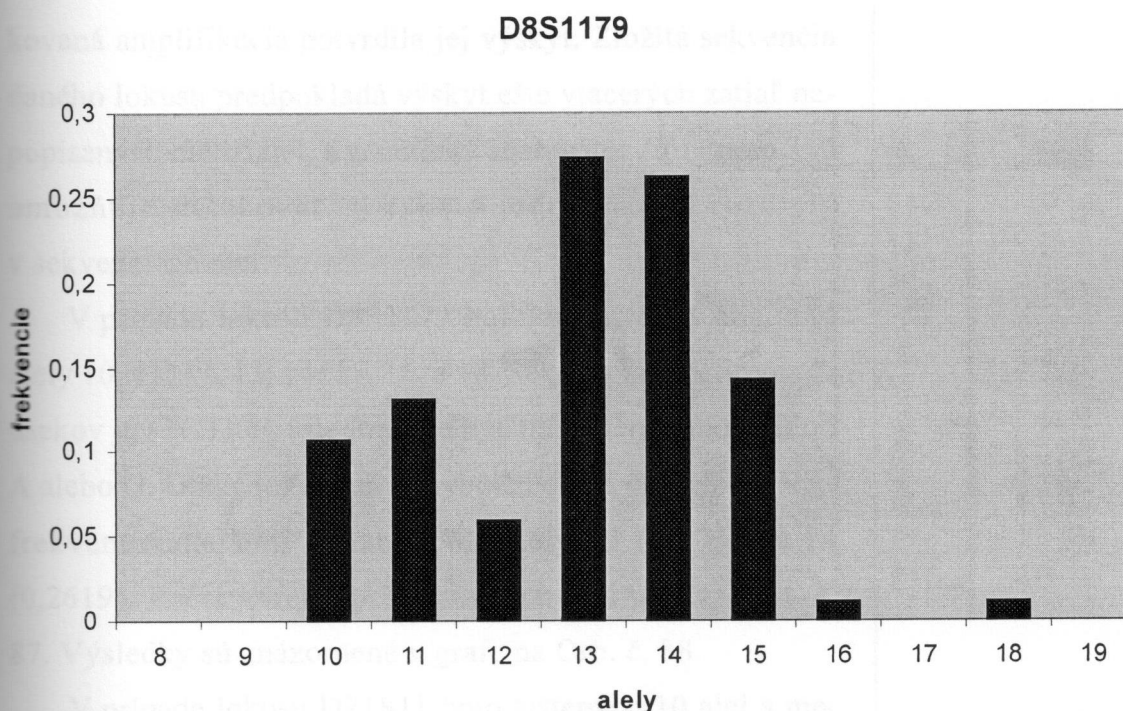
V prípade lokusu FGA bolo zistených 12 alel, a to alely 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 a ďalšie tri medzialely. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 20 (0,204), 21 a 24

(0,1667). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 83. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 85.

Sekvencia repetitívnych úsekov lokusu FGA je nasledovná: (TTTC)₃ TTTT TTCT (CTTT)_n CTCC (TTCC)₂. Ich dĺžka sa pohybuje od 219 do 267 bp. Na tomto lokuse bol badateľný hojný výskyt medzialel, a to: 22.2, 23.2, 24.1. Manuál AmpFISTR Profiler Plus z nich uvádza medzi ďalšími známymi alelami len alely 22.2 a 23.2, a databáza CSF Combined Caucasian ProfilerPlus Allele Frequency Table tiež nespomína alelu 24.1 zistenú v tomto súbore. Napriek tomu opa-

Obr. č. 87.: Frekvencie lokusu D8S1179 u Rómov (naše výsledky)

D8S1179		
Názov alely	Počet	Frekvencia
8	0	0,0000
9	0	0,0000
10	9	0,1071
11	11	0,1310
12	5	0,0595
13	23	0,2738
14	22	0,2619
15	12	0,1429
16	1	0,0119
17	0	0,0000
18	1	0,0119
19	0	0,0000
spolu:	84	1,0000



Obr. č. 88.: Frekvencie lokusu D8S1179 u Rómov (naše výsledky)

Obr. č. 89.: Frekvencie lokusu D21S11
u Rómov (naše výsledky)

D21S11		
Názov alely	Počet	Frekvencia
24.2	0	0,0000
25	0	0,0000
26	1	0,0116
27	0	0,0000
28	9	0,1047
29	19	0,2209
30	10	0,1163
30.2	8	0,0930
31	7	0,0814
31.2	7	0,0814
32	0	0,0000
32.2	17	0,1977
33	0	0,0000
33.2	6	0,0698
34	0	0,0000
34.2	2	0,0233
35	0	0,0000
spolu:	86	1,0000

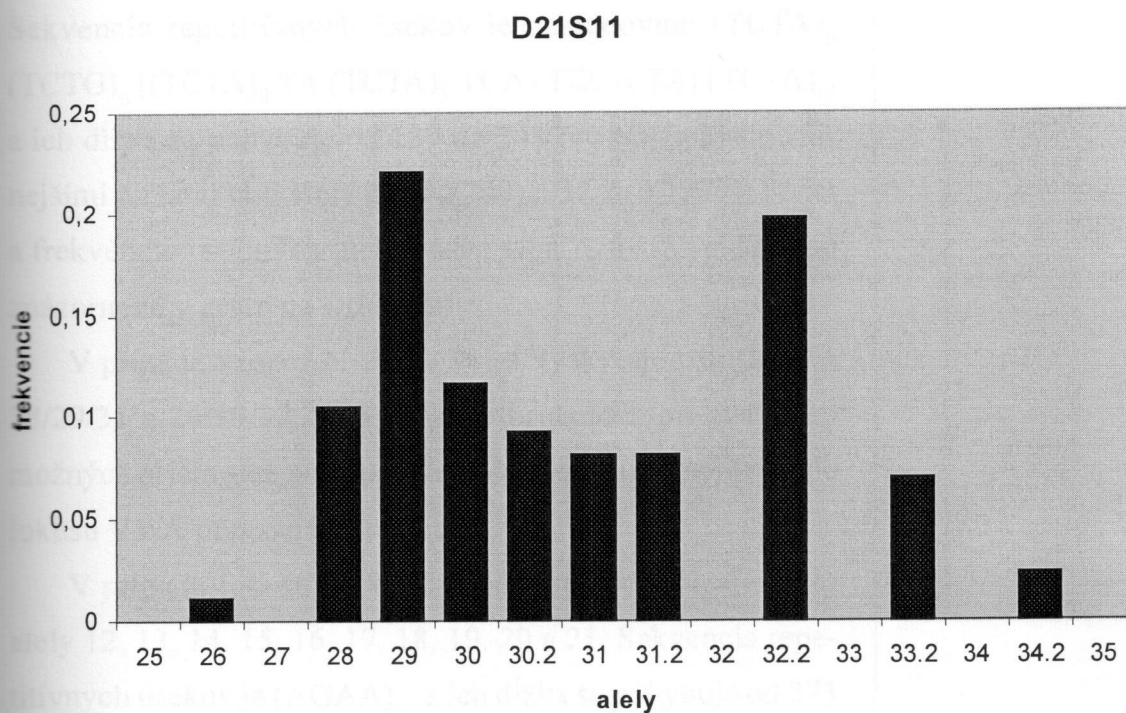
Obr. č. 90.: Frekvencie lokusu D18S51
u Rómov (naše výsledky)

D18S51		
Názov alely	Počet	Frekvencia
9	0	0,0000
10	0	0,0000
11	0	0,0000
12	8	0,0952
13	3	0,0357
14	17	0,2024
15	8	0,0952
16	11	0,1310
17	25	0,2976
18	7	0,0833
19	2	0,0238
20	2	0,0238
21	1	0,0119
22	0	0,0000
23	0	0,0000
24	0	0,0000
25	0	0,0000
spolu:	84	1,0000

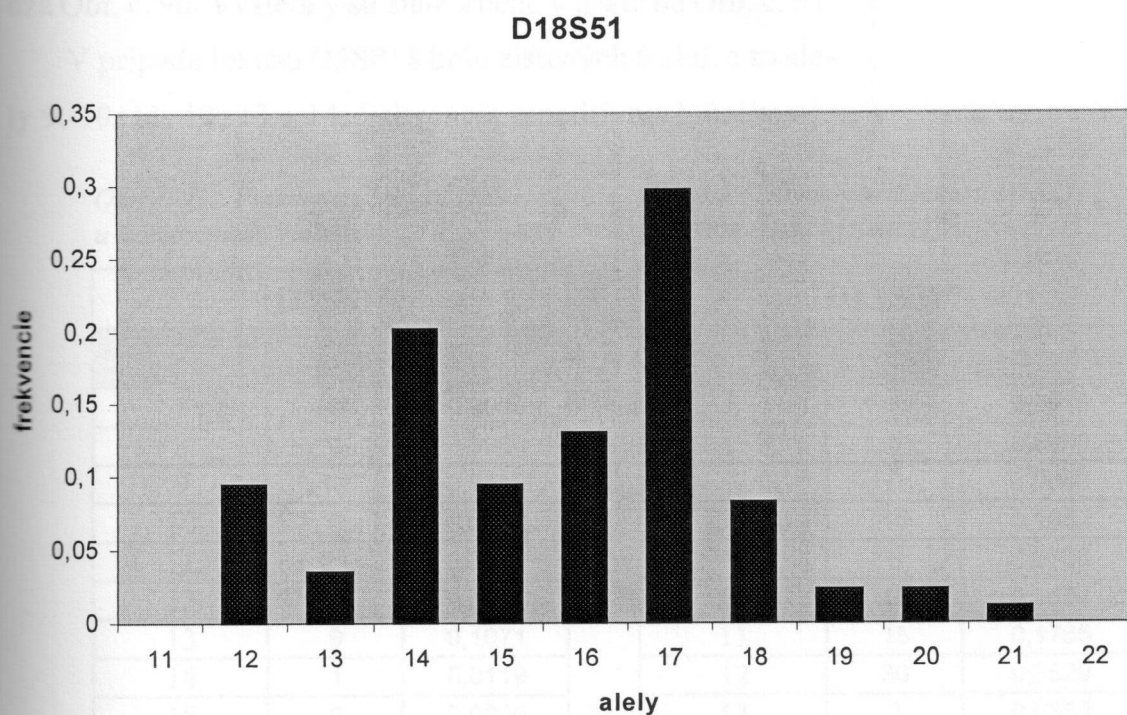
kovaná amplifikácia potvrdila jej výskyt. Zložitá sekvencia daného lokusu predpokladá výskyt ešte viacerých zatiaľ nepopísaných medzialel, a genetický analyzátor Abi Prism 310 umožňuje detekovať aj takéto jednobázové rozdiely v sekvenciách alel.

V prípade lokusu D8S1179 bolo zistených 8 alel, a to alely 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, a 18. Sekvencia repetitívnych úsekov je $(TCTR)_n$, kde R môže byť nahradená nukleotidmi A alebo G. Dĺžka lokusu sa pohybuje od 128 do 168 bp. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 13 (0,2738) a 14 (0,2619). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 87. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 88.

V prípade lokusu D21S11 bolo zistených 10 alel a medzialel, a to: 26, 28, 29, 30, 30.2, 31, 31.2, 32.2, 33.2 a 34.2.



Obr. č. 91.: Frekvencie lokusu D21S11 u Rómov (naše výsledky)



Obr. č. 92.: Frekvencie lokusu D18S51 u Rómov (naše výsledky)

Sekvencia repetitívnych úsekov je nasledovná: $(TCTA)_n$ $(TCTG)_n$ $[(TCTA)_3 TA (TCTA)_3 TCA (TCCA TA) (TCTA)_n]$, a ich dĺžka sa pohybuje od 189 do 243 bp. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 29 (0,2209) a 32.2 (0,1977). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 89. Výsledky sú znázornené v grafe na Orb. č. 91.

V prípade vzorky č. 1 a č. 38 sa vyskytuje trojitá alela 28/29/31 a 26/30/32.2. Aj v týchto prípadoch pri zisťovaní možných príčin sme postupovali podobne ako pri trojitej alele lokusu VWA popísaného vyššie.

V prípade lokusu D18S51 bolo zistených 10 alel, a to alely 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 a 21. Sekvencia repetitívnych úsekov je $(AGAA)_n$, a ich dĺžka sa pohybuje od 273 do 341 bp. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 17 (0,2976) a 14 (0,2024). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 90. Výsledky sú znázornené v grafe na Orb. č. 91.

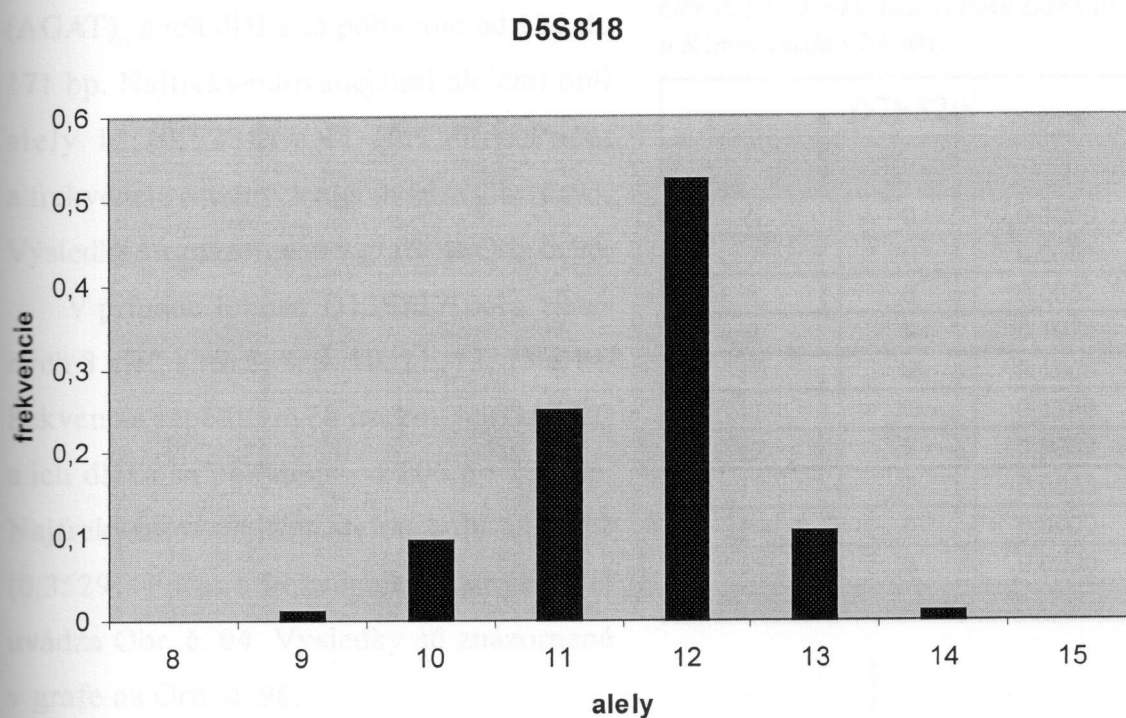
V prípade lokusu D5S818 bolo zistených 6 alel, a to alely 9, 10, 11, 12, 13 a 14. Sekvencia repetitívnych úsekov je

Obr. č. 93.: Frekvencie lokusu D5S818 u Rómov (naše výsledky)

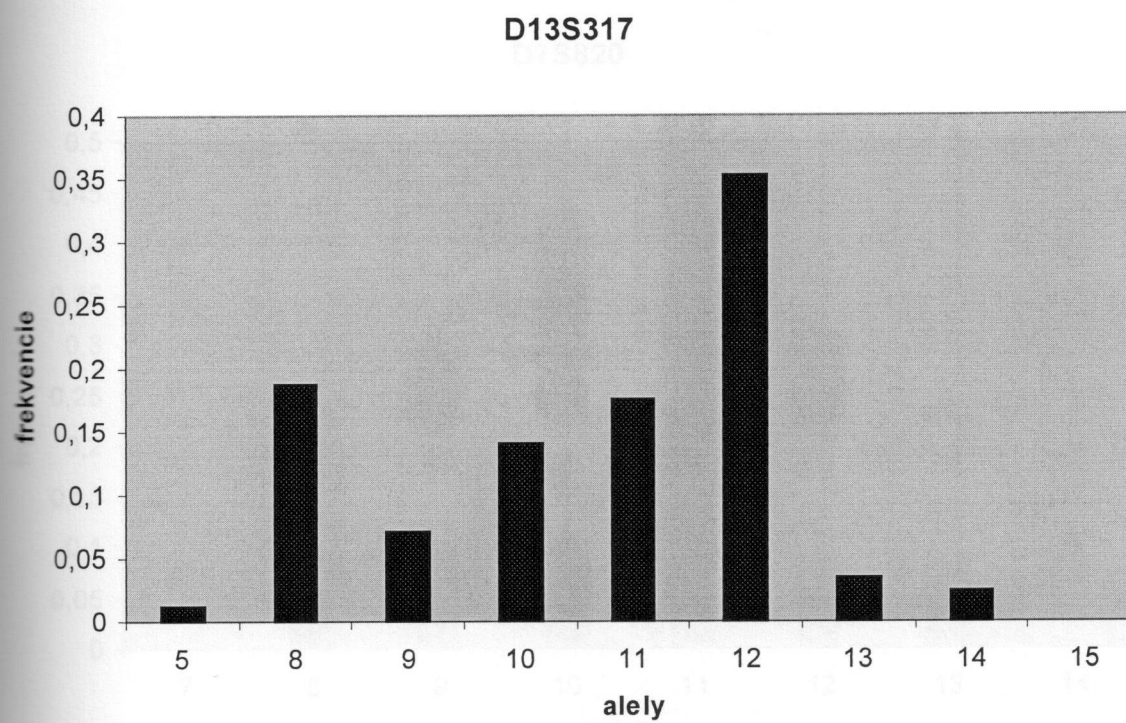
D5S818		
Názov alely	Počet	Frekvencia
7	0	0,0000
8	0	0,0000
9	1	0,0119
10	8	0,0952
11	21	0,2500
12	44	0,5238
13	9	0,1071
14	1	0,0119
15	0	0,0000
16	0	0,0000
spolu:	84	1,0000

Obr. č. 94.: Frekvencie lokusu D13S317 u Rómov (naše výsledky)

D13S317		
Názov alely	Počet	Frekvencia
5	1	0,0118
6	0	0,0000
7	0	0,0000
8	16	0,1882
9	6	0,0706
10	12	0,1412
11	15	0,1765
12	30	0,3529
13	3	0,0353
14	2	0,0235
spolu:	85	1,0000



Obr. č. 95.: Frekvencie lokusu D5S818 u Rómov (naše výsledky)



Obr. č. 96.: Frekvencie lokusu D13S317 u Rómov (naše výsledky)

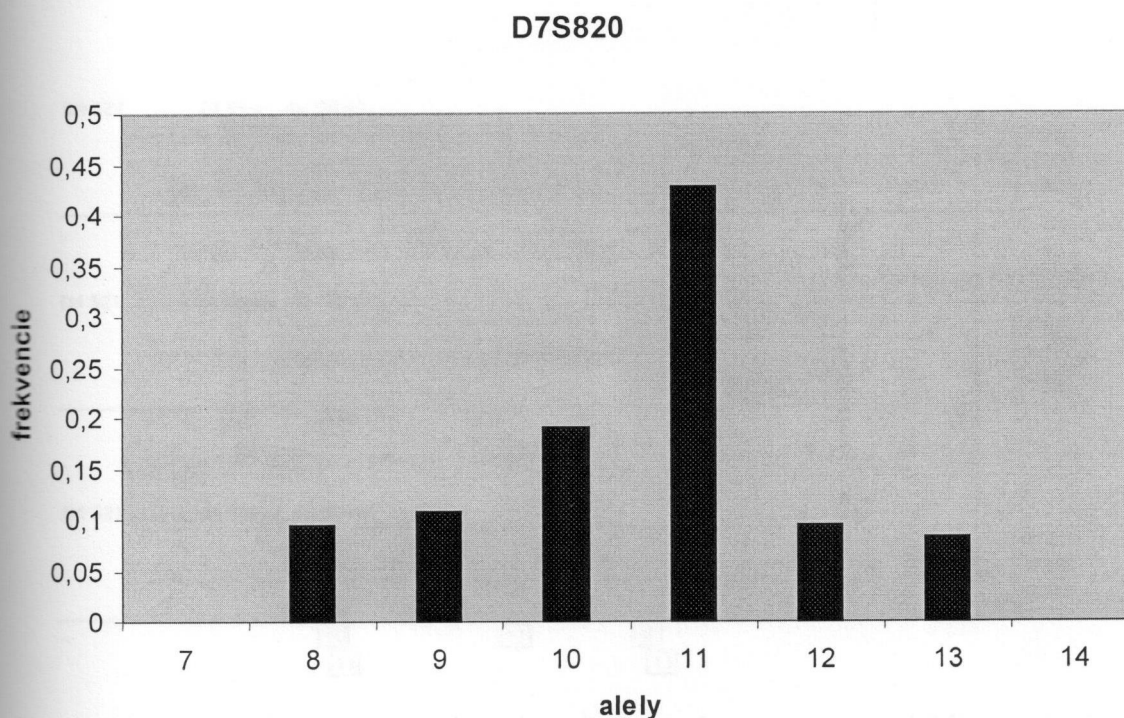
(AGAT)_n a ich dĺžka sa pohybuje od 135 do 171 bp. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 12 (0,5238) a 11 (0,2500). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 93. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 95.

V prípade lokusu D13S317 bolo zistených 8 alel, a to: 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13 a 14. Sekvencia repetitívnych úsekov je (GATA)_n a ich dĺžka sa pohybuje od 206 do 234 bp. Najfrekventovanejšou alelou bola alela 12 (0,3529). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 94. Výsledky sú znázornené v grafe na Obr. č. 96.

V prípade vzorky č. 38 sa vyskytuje trojitá alela 5/8/12. Aj v tomto prípade pri zisťovaní možných príčin tohto javu

Obr. č. 97.: Frekvencie lokusu D7S820 u Rómov (naše výsledky)

D7S820		
Názov alely	Počet	Frekvencia
6	0	0,0000
7	0	0,0000
8	8	0,0952
9	9	0,1071
10	16	0,1905
11	36	0,4286
12	8	0,0952
13	7	0,0833
14	0	0,0000
15	0	0,0000
spolu:	84	1,0000

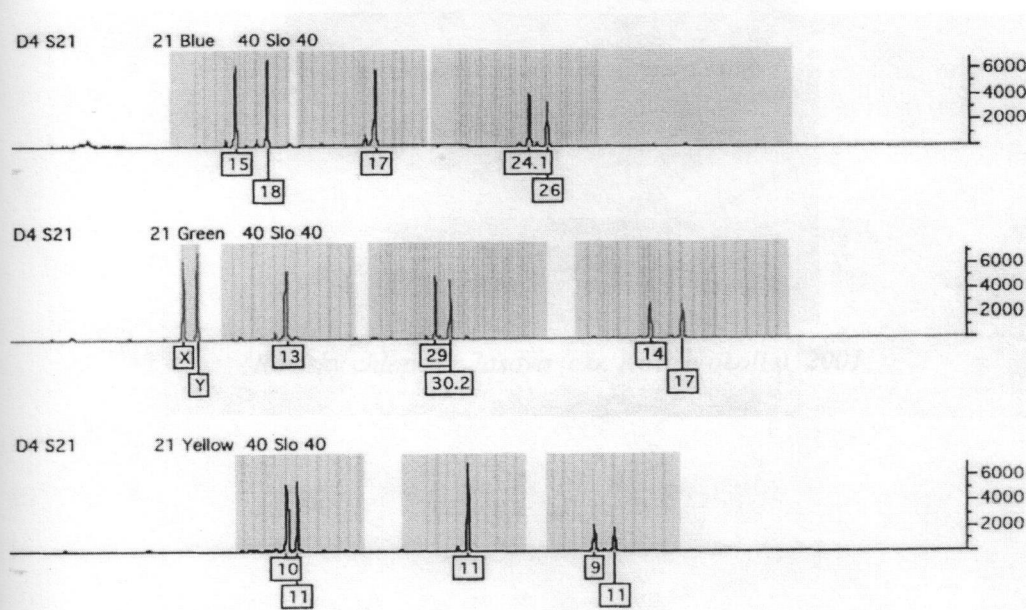


Obr. č. 98.: Frekvencie lokusu D7S820 u Rómov (naše výsledky)

sme postupovali podobne ako pri trojitej alele lokusu VWA popísaného vyššie.

Zistili sme 6 alel, a to alely 8, 9, 10, 11, 12 a 13. Sekven-
cia repetitívnych úsekov lokusu D7S820 je nasledovná: (GA-
TA)_n, ich dĺžka sa pohybuje od 258 do 294 bp. Najfrekventovanejšími alelami boli alely 11 (0,4286) a 10 (0,1905). Počet a frekvencie ostatných alel uvádza Obr. č. 97. Výsledky sú znázornené v grafe na Orb. č. 98.

Markery „Amelogenin“ zahrnuté v kite AmpFI STR Prpo-
filer Plus zisťujú alely vyskytujúce sa na pohlavných chro-
mozómoch X: p22.1-22.3 a Y: p11.2, čo v našom prípade
nemá informatívnu úlohu, pretože ide o vzorky so známym
pohlavím. Tento lokus však môžeme využiť na kontrolu prí-
padnej zámieny vzoriek. V našom prípade sa potvrdilo, že sle-
dovaný súbor obsahuje vzorky 31 mužských a 11 ženských
jedincov.



Obr. č. 99.: 9 STR lokusov a Amelogenin vyhodnotený pomocou genetického analyzátoru ABi Prism 310

RÓMSKA POPULÁCIA V POROVNANÍ
S INÝMI POPULÁCIAMI

Je pomerne veľa ľudí, ktorí sa na osobnosti podobajú, a
VNTR a STR polymorfizmy, pretože dávajú dobrý, zanedbateľný
náznak na charakteristiku populácie, rovnako pomáhajú ľuďom s rôznymi
nástrojmi aj na identifikáciu národov v laboratóriách a
v polítnych spóroch.

RÓMSKA POPULÁCIA V POROVNANÍ S INÝMI POPULÁCIAMI

V tomto článku sa zaoberáme s porovnaním Rómskej populácie z Jasova v
okrese Bodova, z Medzova a z Jasova v prípade VNTR lokusov
a Rómov z Medzova a z Jasova v prípade STR lokusov
s inými populáciami obce.

Najlepšie porovnanie sa uskutočnilo s populáciou z Jasova
vypočítaním genetických rozdielov medzi Rómami z Jasova
v kóde genetických rozdielov a Rómami z Jasova v kóde
genetických rozdielov. Rómov z Jasova v kóde genetických
rozdielov a Rómov z Jasova v kóde genetických rozdielov
na zaujímavé výsledky.

Lokus ApoB

Na porovnanie populácie z Jasova s populáciou z Jasova
v lokuse ApoB, z ktorého sa zistilo, že populácia z Jasova
je do značnej miery podobná populácii z Jasova.

Graf na Obr. 4.161 udáva porovnanie našich výsledkov
s výsledkami rôznych národných populácií z rôznych častí
Slovenska, a to z oblasti Spie (Bernasovská a kol. 2000),
z oblasti Jasova a Rómov (Bernasovská a kol. 1998a) a
Podkarpátia (Bernasovská a kol. 1998a).



Rómsky chlapec z Jasova (okr. Košice-okolie), 2001

RÓMSKA POPULÁCIA V POROVNANÍ S INÝMI POPULÁCIAMI

Je pomerne veľa publikácií, ktoré sa zaoberajú problematikou VNTR a STR polymorfizmov, pretože okrem toho, že sú využiteľné na charakterizáciu populácií, vysoko polymorfné lokusy sú účinnými nástrojmi aj na identifikáciu osôb v kriminalistike a v paternitných sporoch (Arroyo a kol. 1996, Gené a kol. 1995).

V tejto kapitole predkladám grafy, v ktorých porovnávam nami sledovanú Rómsku populáciu (Rómov z Moldavy nad Bodvou, z Medzeva a z Jasova – v prípade VNTR lokusov; a Rómov z Moldavy nad Bodvou v prípade STR lokusov) s inými populáciami zo sveta.

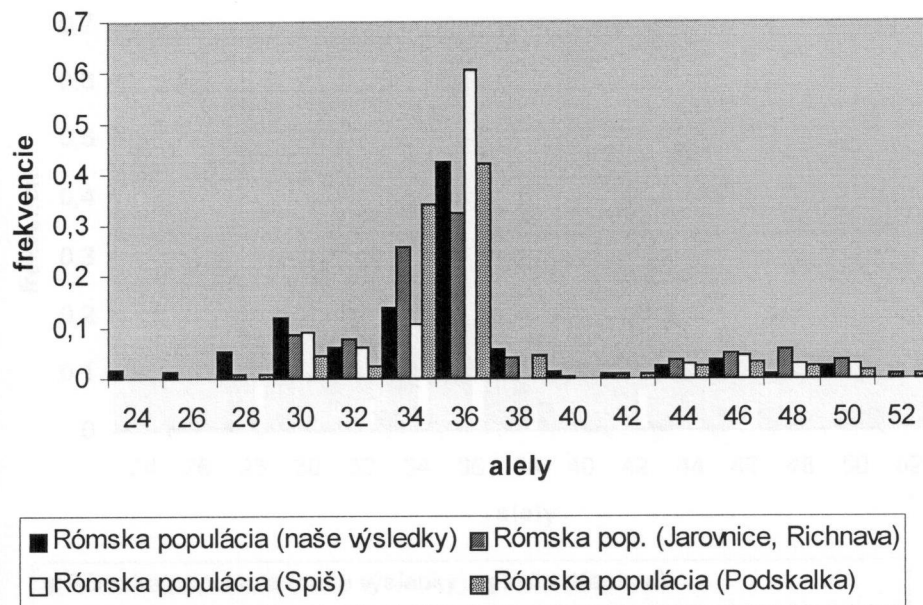
Najlepším porovnaním je zostrojenie grafu na základe vypočítaných genetických vzdialeností, ako je to uvedené v kapitole Genetické vzdialenosti. Do takého porovnania však nebolo možné zaradiť všetky publikácie pre nekompletnosť údajov. Napriek tomu aj tieto výsledky môžu poukázať na zaujímavé súvislosti, ak zvolíme inú metódu na ich porovnávanie.

LOKUS APOB

Na porovnanie lokusu ApoB, ako aj u ostatných sledovaných lokusov, sme rozdelili výsledky z dostupnej literatúry do skupín podľa geografickej polohy alebo charakteru populácie a z týchto skupín sme vytvorili grafy.

Graf na Obr. č. 101. udáva porovnanie našich výsledkov s výsledkami rôznych rómskych populácií z východného Slovenska, a to z oblasti Spiš (Bernasovská a kol. 2000), z osád Jarovnice a Richnava (Bernasovská a kol. 1998a) a Podskalka (Bernasovská a kol. 1998a).

ApoB



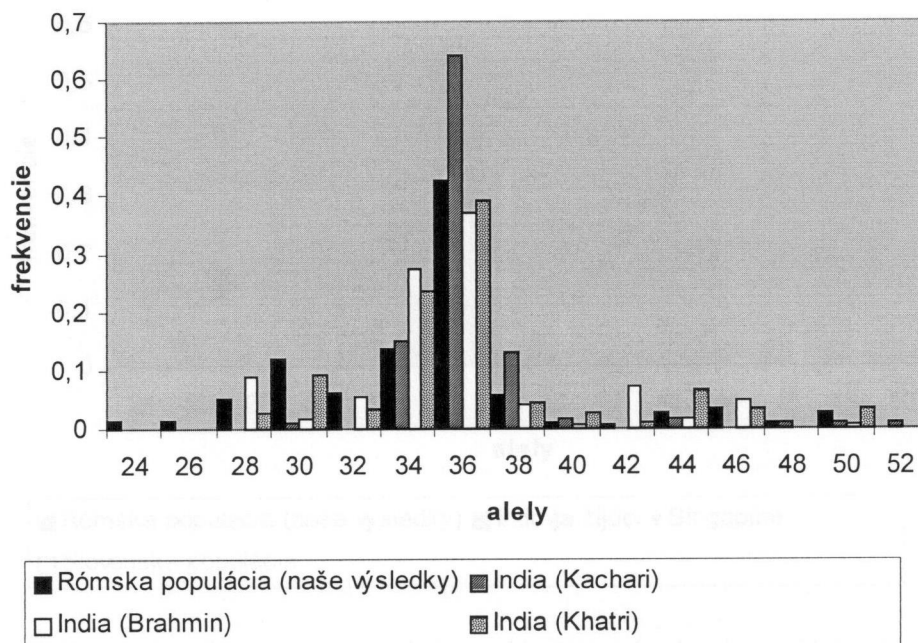
Obr. č. 101.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi populáciami

Ďalšie grafy (Obr. č. 102. - 104.) porovnávajú zistené údaje u Rómov s publikovanými údajmi Indickej populácie a to s kastou Kachari (Deka a kol., 1992) a kastami zo strednej Indie Brahmin, Khatri, Baiga, Dhimers a Gond (Mastana a kol., 2000).

Výsledkom z nášho súboru sa najviac podobajú údaje z kást Dhimers a Baiga, a najmenej Indovia žijúci v Singapúre (Choong a kol., 1999).

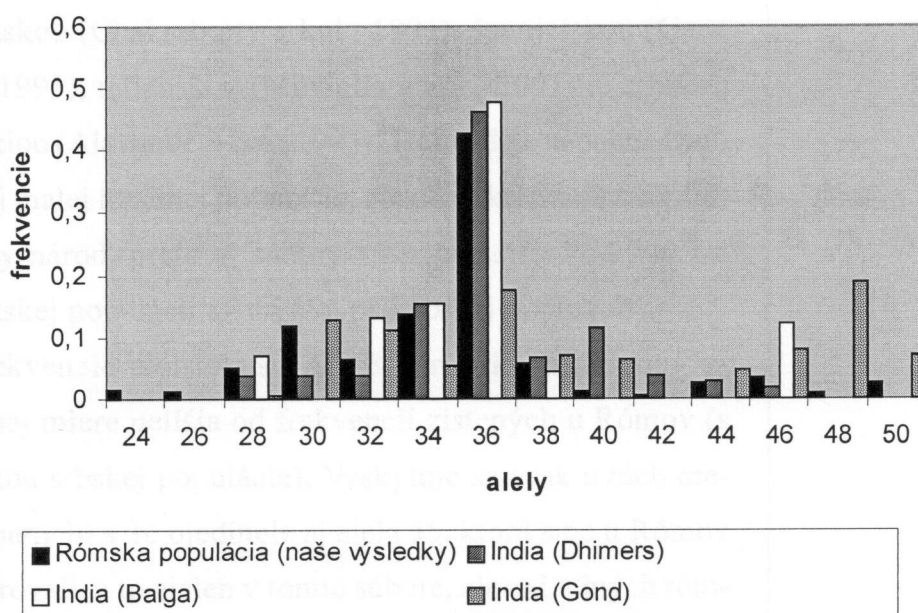
Publikované údaje indických kást väčšinou nepresahujú počet 60 sledovaných osôb podobne, ako pri výskume Rómov z jednej osady. Rómov, ale aj indické kasty charakterizujú veľkorodiny, čo obmedzuje počet možných zaradených vzoriek do výskumu asi na 1/6 až 1/8 celkovej populácie, ak chceme dodržať všetky pravidlá antropogenetického výskumu. Graf. (Obr. č. 104.) uvádza aj údaje slovenskej populácie (Kádasi a kol., 1994).

ApoB

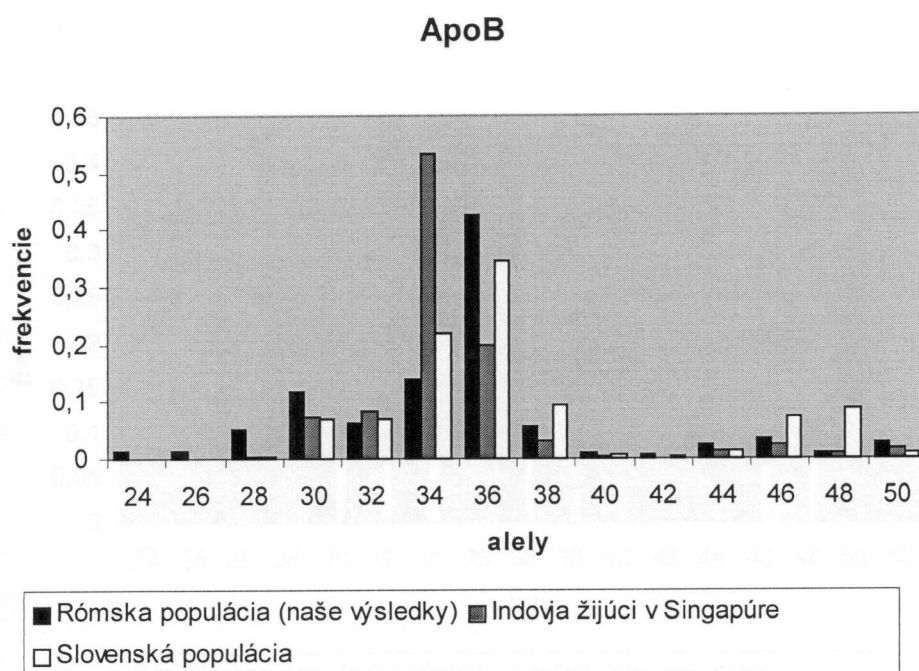


Obr. č. 102.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

ApoB



Obr. č. 103.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

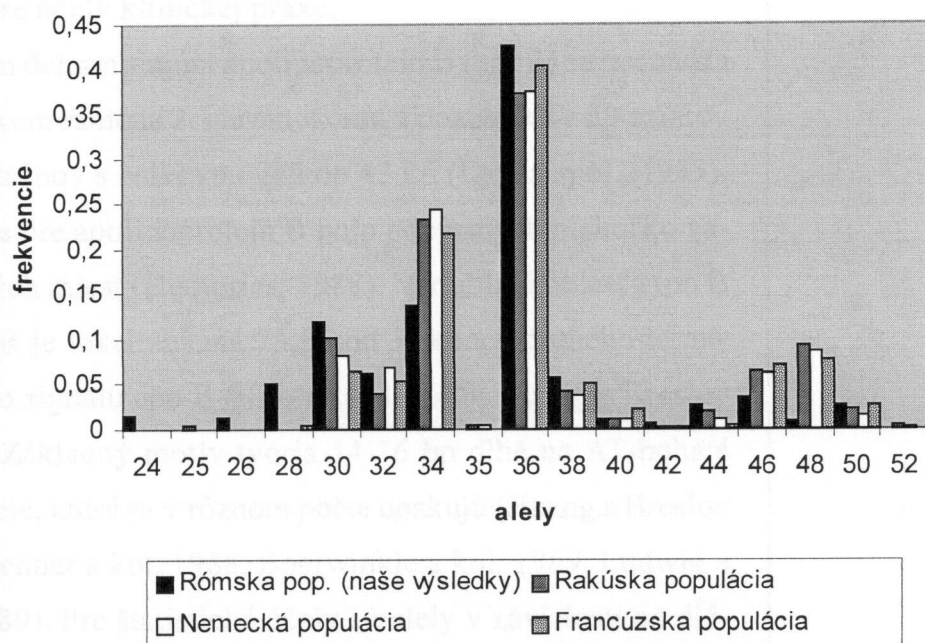


Obr. č. 104.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Grafy (Obr. č. 105. a 106.) porovnávajú sledovanú rómsku populáciu s inými nerómskymi populáciami Európy: rakúskou (Ludwig a kol., 1989), nemeckou (Pörtl a kol., 1996), francúzskou (Chakraborty a kol., 1991), španielskou (Gené a kol., 1995), talianskou (Maviglia a kol., 2001) a srbskou populáciou (Alavantič a kol., 1997). Tieto údaje nepochádzajú z jednej malej lokálnej populácie, ale charakterizujú celý štáto tvorný národ, preto aj súbory sú početnejšie (od 240 pri francúzskej populácii až do 696 pri srbskej populácii).

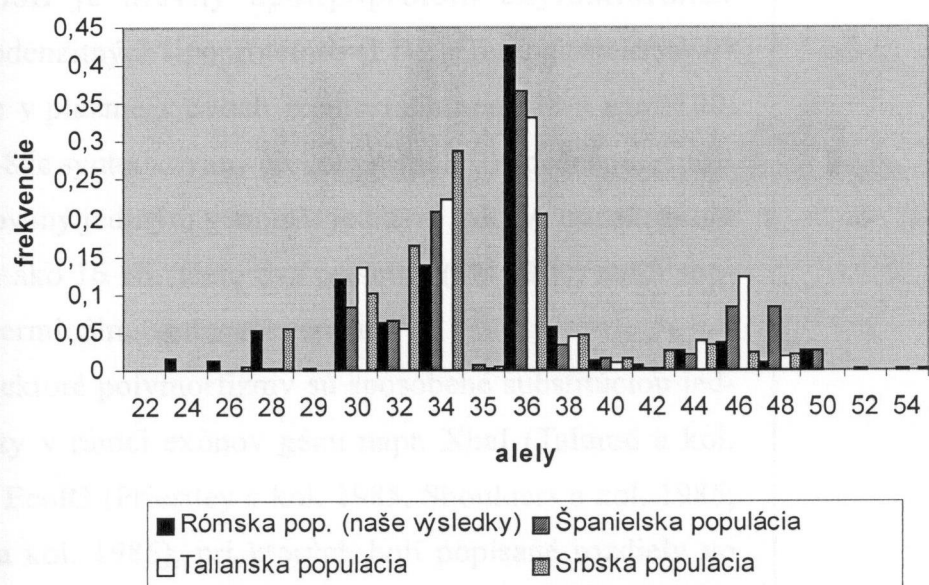
Frekvencie alel lokusu ApoB európskych národov sa v značnej miere nelíšia od frekvencií zistených u Rómov (s výnimkou srbskej populácie). Vyskytuje sa však u nich medzi alelami 34 a 36 ojedinele aj alela 35, ktorú sme u Rómov nepozorovali, a to nielen v tomto súbore, ale ani v iných rómskych populáciách z východného Slovenska, ako na to poukazuje aj Obr. č. 101.

ApoB



Obr. č. 105.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

ApoB



Obr. č. 106.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Okrem populačno-genetických štúdií sa lokus ApoB skúma aj pre účely klinickej praxe.

Gén determinujúci apolipoproteín B (apoB) sa nachádza na krátkom ramene 2. chromozómu a pozostáva z 29 exónov a 28 intrónov s celkovou dĺžkou 43 kb (Law a spol., 1985). Na géne pre apolipoproteín B bolo popísaných niekoľko variabilných miest (Humpries, 1988). Variabilná oblasť Apo B 3'VNTR je lokalizovaná 75 bp od 3' konca druhého terminálneho signálu apo B (Knott a kol. 1986, Huang a Breslov 1987). Základný motív tvoria 14-16 bp dlhé na AT-bohaté sekvencie, ktoré sa v rôznom počte opakujú (Huang a Breslov 1987, Jenner a kol. 1988, Boerwinkle a kol. 1989, Ludwig a kol. 1989). Pre štatistické účely sú alely v závislosti od dĺžky rozdeľované na veľké (L – large) s počtom jednotiek viac ako 42 a malé (S – small) s počtom opakujúcich sa jednotiek menším alebo rovným 42 (Boerwinkle a kol. 1990, Renges a kol. 1992).

ApoB je hlavný apolipoproteín chylomikrónov a nízkodenzitných lipoproteínov (LDL). Tento proteín sa vyskytuje v plazme v dvoch izomorfách apoB48 a apoB100. ApoB48 je syntetizovaný črevom a apoB100 pečeňou. ApoB je kódovaný jediným génom a jediným mRNA transkriptom väčším ako 16 kb. Tieto dva proteíny (48 a 100) majú spoločnú terminálnu aminosekvenciu.

Niektoré polymorfizmy sú spôsobené substitúciou jednej bázy v rámci exónov génu napr. XbaI (Talmud a kol. 1985), EcoRI (Priestley a kol. 1985, Shoulders a kol. 1985, Barni a kol. 1986), pri ktorých boli popísané rozdiely vo frekvenciách alel medzi pacientmi so srdcovo-cievnyimi ochoreniami a kontrolnými skupinami zdravých jedincov (Hege-

le a kol. 1986, Myant a kol. 1989, Paulweber a kol. 1990). Okrem toho sa zistilo, že dlhé alely, ktoré obsahujú vysoký počet opakujúcich sa jednotiek, sú frekventovanejšie u Európanov (Rakúšanov) a u amerických belochov Hegele a kol. (1986) a Friedl a kol. (1990).

Alela XbaI – ako to potvrdil aj (Humpries a kol. 1987, Brdečka 1995) - výrazne determinuje hladinu sérového cholesterolu. XbaI patrí medzi prvých identifikovaných členov polygénového systému ovládajúceho hladinu celkového cholesterolu, keďže jeho hladina je asi na 50% determinovaná genetickými faktormi (podieľa sa na nich najväčším podielom lokus ApoB, t.j. cca 14 %)

Familiárna hypercholesterolémia (FH) je dedičné ochorenie s autosomálne dominantným typom prenosu, stojaca na jednom z popredných miest v rebríčku priamych úmrtí na ischemickú chorobu srdca (ICHs) v najmladších vekových skupinách (Hořínek a kol. 1995). Príčinou tohto ochorenia je defekt génu pre povrchové aktivity bunkových LDL receptorov (LDLR) pre lipoproteíny nízkej hustoty - ich hlavnou funkciou je transport cholesterolu do periférnych tkanív (Brown a kol. 1986, Goldstein a kol. 1998).

V poslednej dobe sa pri DNA diagnostike FH dostávajú do popredia nielen štúdie štruktúry génu pre LDL receptory, ale aj jeho ligandu, apolipoproteínu B100, t.j. hlavnej proteínovej zložky LDL častíc. Doteraz bola popísaná jediná mutácia apoB100 s hypercholesterolickým účinkom (Innerrarity a kol. 1990). Ide o substitúciu guaninu adenínom v nukleotidovej pozícii 10708 bp 26. exónu génu pre apoB100. LDL s defektným apoB100 majú len asi 5 % afinitu k LDL-receptoru v porovnaní s normálnym LDL. Táto kli-

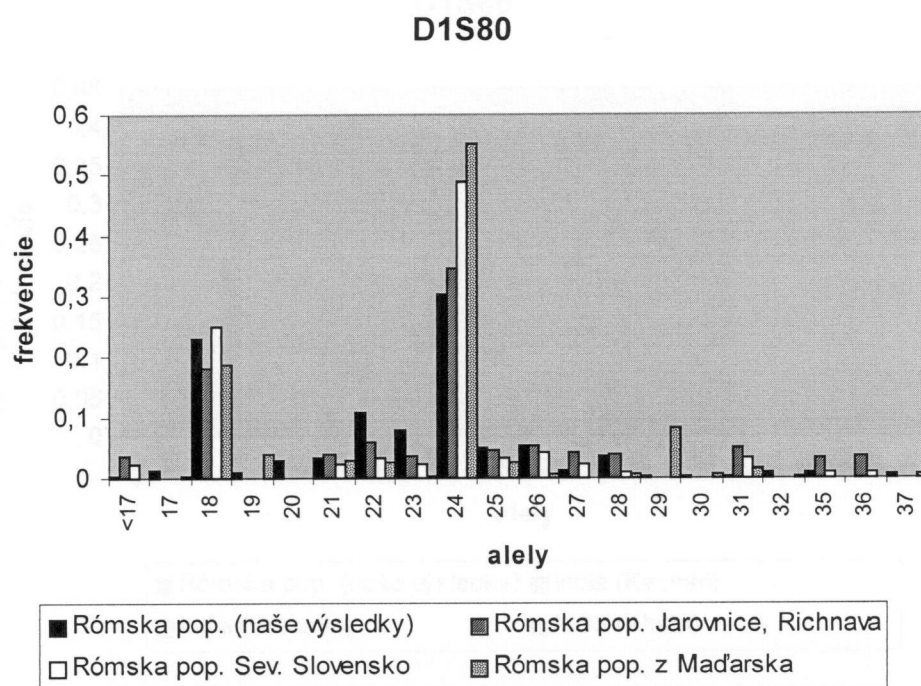
nická jednotka bola nazvaná *familiárny defekt apolipoproteínu B100 (FDB)* (Soutal a kol. 1989) a jeho populačná incidencia v heterozygotnej forme je 1 : 500 – 1 : 700 (Kotze a kol. 1986). Jeho klinický obraz a biochemické nálezy sa nelíšia od klasickej FH.

Polymorfizmus lokusu apoB je spojený s rozličnými manifestáciami ochorení okrem už spomínaných aj s ochoreniami ako sú dislipidémia, dislipoproteinémia, diabetes melitus typu II. Žiadna spojitosť však nebola nájdená medzi genotypom polymorfizmu typu ApoB 3' VNTR a plazmatickými hladinami lipidov, napriek tomu, že iné typy s tým súvisia (Mazura a kol. 1999).

LOKUS D1S80

Jednou z nami sledovaných vysoko polymorfných oblastí je D1S80 marker lokalizovaný na 1. chromozóme. Tento lokus bol identifikovaný sondou pMCT118. VNTR-oblasť tvorí jadrová 16 bp sekvencia, ktorá sa tandemovo opakuje 15 až 42 krát (Luis a Caero, 1996).

Veľkosti fragmentov alel sa vyskytujú v rozmedzí 350 - 800 bp, pričom rozdiely medzi alelami jednotlivcov môžu spočívať aj v jedinej tandemovej sekvencii (Budowle a kol. 1991, Sajantila a kol. 1992), čo umožňuje pre lokus prijať systém nomenklatúry založený na počte opakujúcich sa jednotiek.



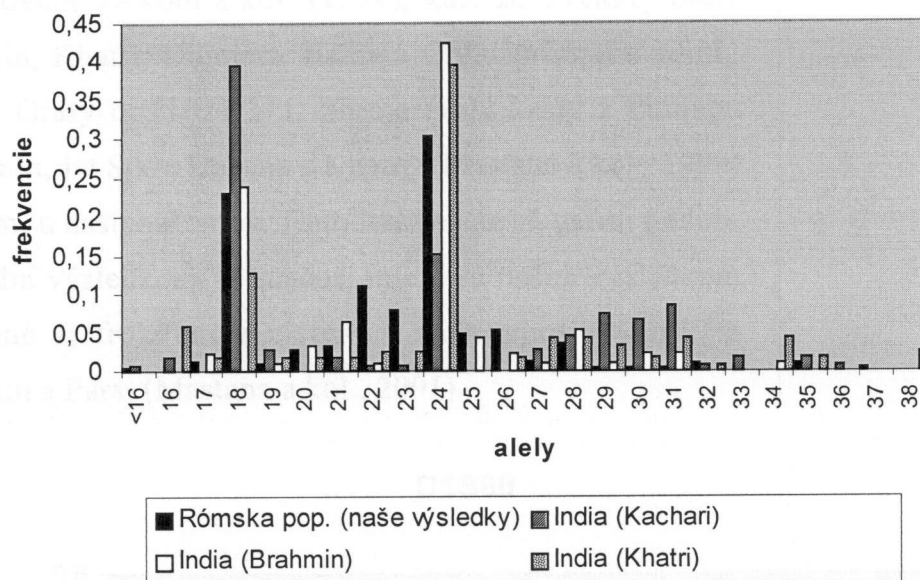
Obr. č. 107.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi populáciami

Sledovaná rómska populácia v grafe (Obr. č. 107.) je porovnávaná s inými rómskymi populáciami zo Slovenska aj zo zahraničia. Údaje jarovnických a richnavských Rómov publikovali Bernasovská a kol. (2000), Rómov zo severného Slovenska Bernasovská a kol. (1999), a Rómov z Maďarska zo župy Baranya Woller a kol. (1998).

Frekvencie alel maďarských Rómov sa odlišujú od frekvencií pozorovaných u slovenských Rómov.

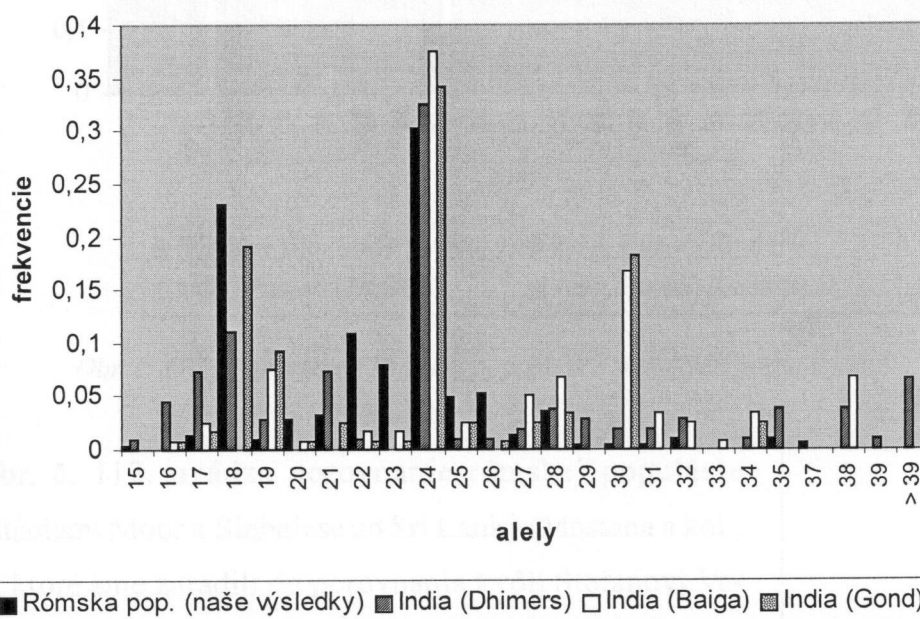
Grafy (Obr. č. 108. - 112.) porovnávajú výsledky našich Rómov s výsledkami rôznych indických populácií.

D1S80



Obr. č. 108.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

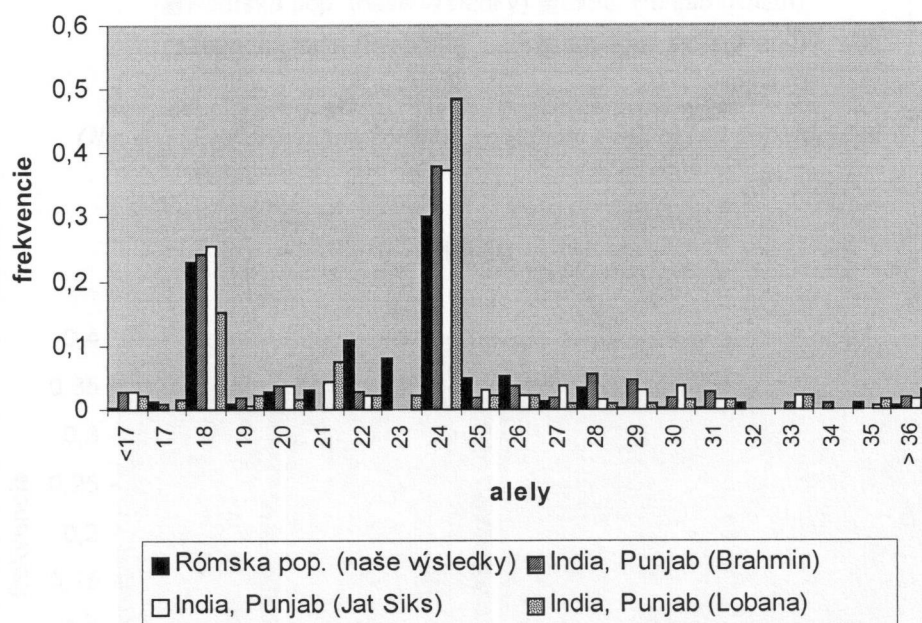
D1S80



Obr. č. 109.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

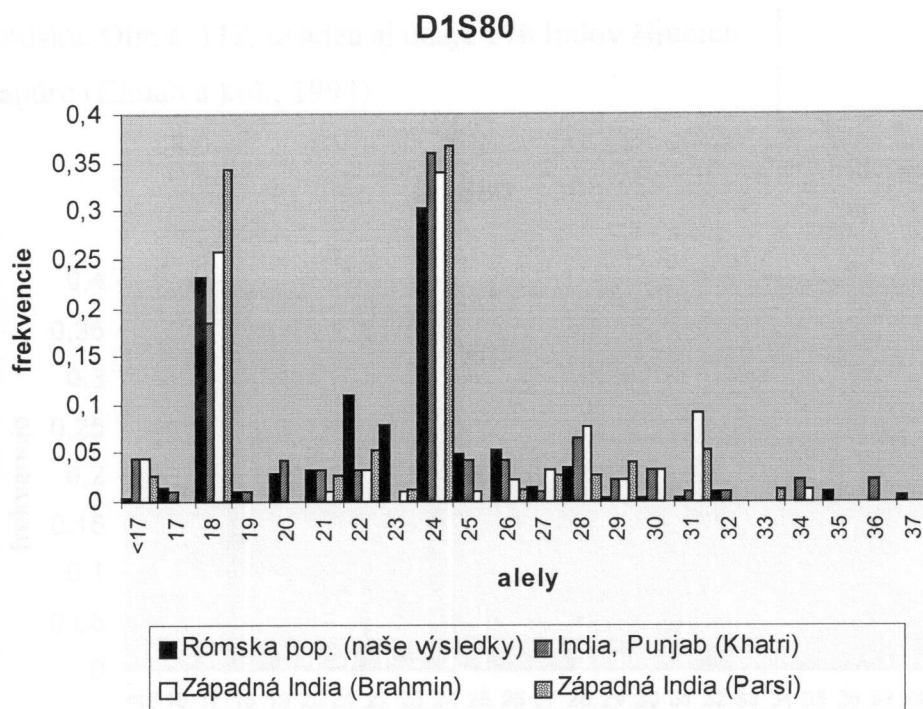
Grafy (Obr. č. 108. a 109.) uvádzajú údaje kasty Kachari publikované Dekom a kol. (1994), kást zo strednej Indie Brahmin, Khatri, Dhimers, Baiga a Gond (Mastana a kol., 2000). Grafy č. 110. a 111. porovnávajú kasty z Punjabu (Brahmin, Jat Sikh, Lobana a Khatri) (Mastana a kol., 1999) s údajmi u našich Rómov. Tieto frekvencie sú veľmi podobné našim výsledkom. V značnej miere sú našim výsledkom podobné aj frekvencie zistené u západoindických kást Brahmin a Parsi (Mastana a kol., 2001).

D1S80

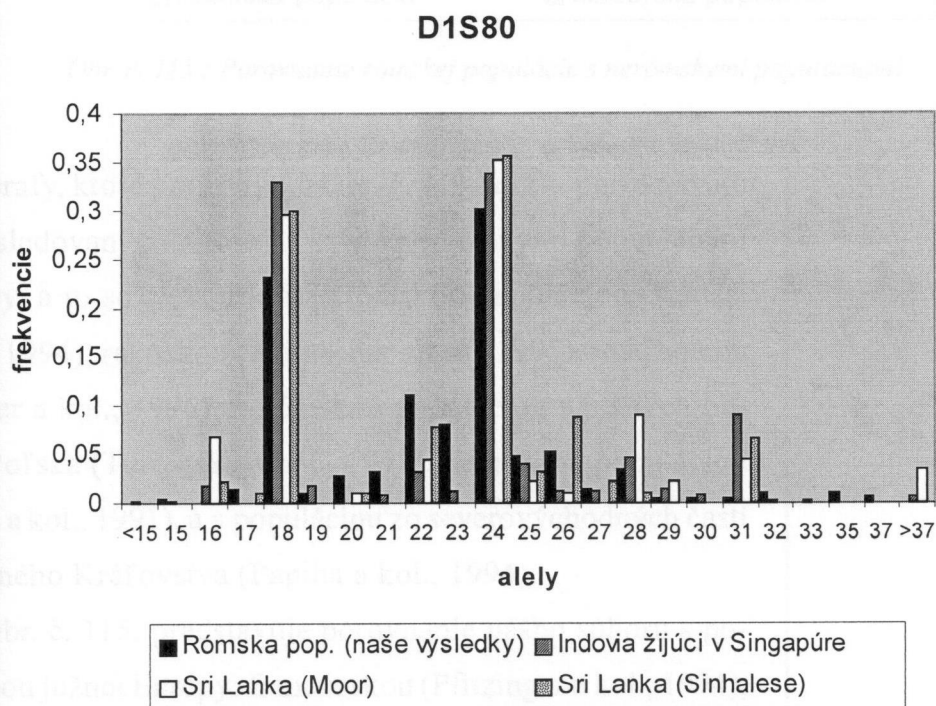


Obr. č. 110.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

Obr. č. 112. uvádza porovnanie rómskej populácie s populáciami Moor a Sinhalese zo Sri Lanky (Mastana a kol., 2001), ktoré sme zaradili do porovnania kvôli Štefanovi Valymu, ktorý ako prvý poukázal na indický pôvod Rómov na základe asi 1000 sinhalezských slov ktoré zapísal

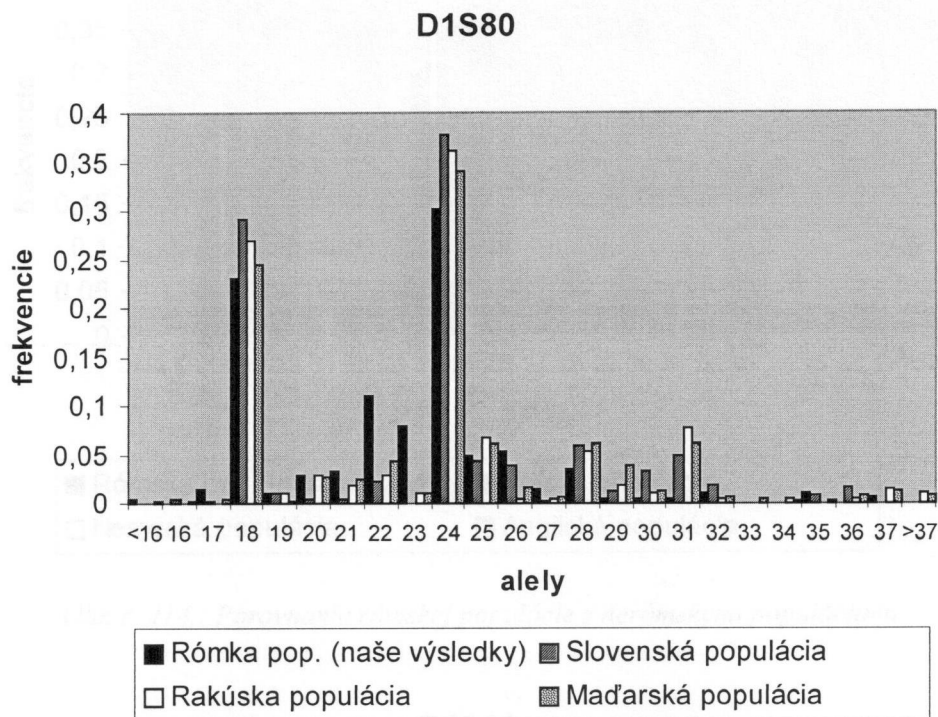


Obr. č. 111.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami



Graf č. 112.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

v Holandsku. Obr. č. 112. uvádza aj údaje 170 Indov žijúcich v Singapúre (Chuah a kol., 1994).

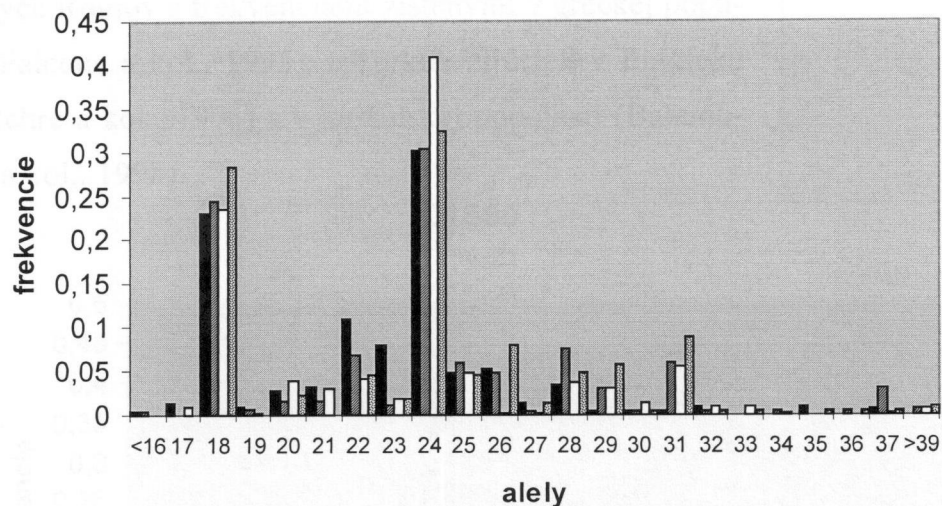


Obr. č. 113.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Grafy, ktoré predstavujú Obr. č. 113. a 114. porovnávajú nami sledovaných Rómov s inými nerómskymi populáciami Európy, a to so slovenskou nerómskou populáciou (Kádasi a kol. 1994), rakúskou (Klintschar a kol., 1995), maďarskou (Woller a kol., 1996), nerómskou populáciou z južných oblastí Poľska (Turowska a kol., 1995), nemeckou populáciou (Rand a kol., 1991), a s populáciou zo severovýchodných častí Spojeného Kráľovstva (Papiha a kol., 1994).

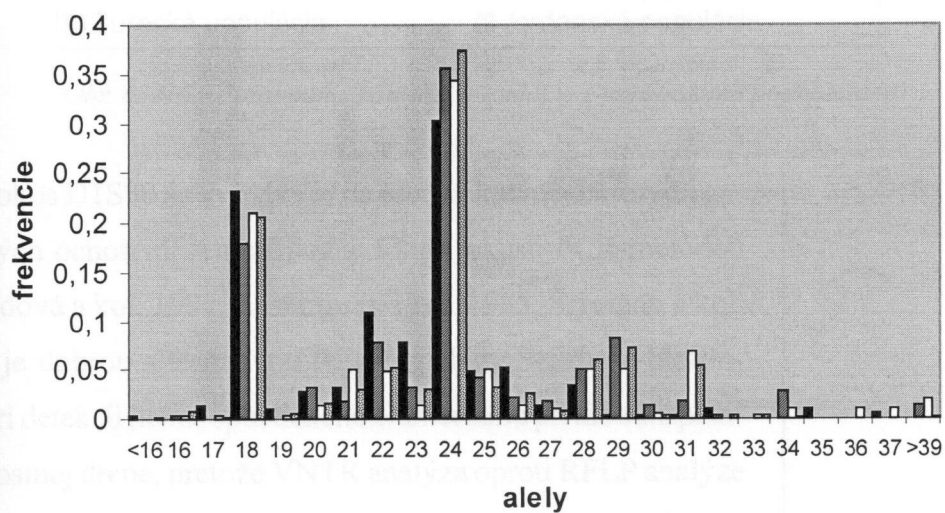
Obr. č. 115. predstavuje porovnanie nášho súboru s populáciou južnej Európy: francúzskou (Pfitzinger a kol., 1994), španielskou (z Andalúzie) (Flores a kol., 2001) a talianskou (Maviglia a kol., 2001) populáciou.

D1S80



Obr. č. 114.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

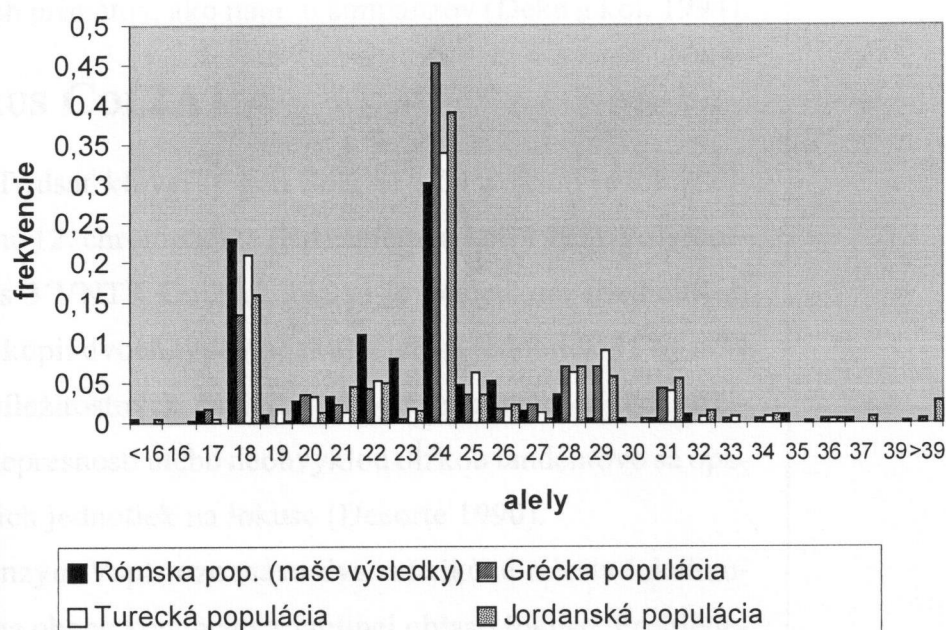
D1S80



Obr. č. 115.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Graf (Obr. č. 116.) porovnáva frekvencie alel nami sledovaných Rómov s frekvenciami zistenými v gréckej populácii (Falcone a kol., 1995), u Turkov žijúcich v Belgicku (Sepulchre a kol., 1995) a v jordánskej populácii (Balamugan a kol., 1998).

D1S80



Obr. č. 116.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Lokus D1S80 sa využíva aj na identifikáciu niektorých genetických ochorení. Amplifikácia tohto lokusu PCR-metódou (Demidová a kol. 1997, Lasfargues a kol. 1995, Sreeman a kol. 1997) je dobrou alternatívou RFLP analýzy Southern-blottin-
gom pri detekcii hematopoetického chimerizmu pri alotransplan-
tácii kostnej drene, pretože VNTR analýza oproti RFLP analýze
je asi o 50 % lacnejšia, a je to aj rýchlejšia metóda, pri ktorej
postačuje menšie množstvo vzorky.

D1S80 je vysoko informatívny lokus, preto sa využíva
aj v súdnom lekárstve a v paternitných sporoch (Aracura

a kol. 1998, Nakajima a kol. 1996, Budowle a kol. 1991a, Budowle a kol. 1991b), pretože pre PCR stačia 2ng vzorky DNA (Kasai a kol. 1990) a navyše použitím AmpFLP techniky sa dajú úplne vylúčiť prípady falošnej pozitivity (Sajantila a kol. 1992).

Tento lokus je vysoko polymorfný okrem človeka aj u iných primátov, ako napr. u šimpanzov (Deka a kol. 1994).

LOKUS COL2A1

Tridsať kb veľký gén Col2A1 s 54 exónmi je lokalizovaný na 12. chromozóme (Ritvaniemi a kol. 1995). Polymorfizmus 3'VNTR Col2A1 lokusu je dôsledkom rozdielnosti počtu kópií dvoch typov opakujúcich sa jednotiek 31 bp a 34 bp, príležitostných delécií v oboch jednotkách a teda určitých nepresností alebo neobvyklou dĺžkou tandemovo sa opakujúcich jednotiek na lokuse (Decorte 1990).

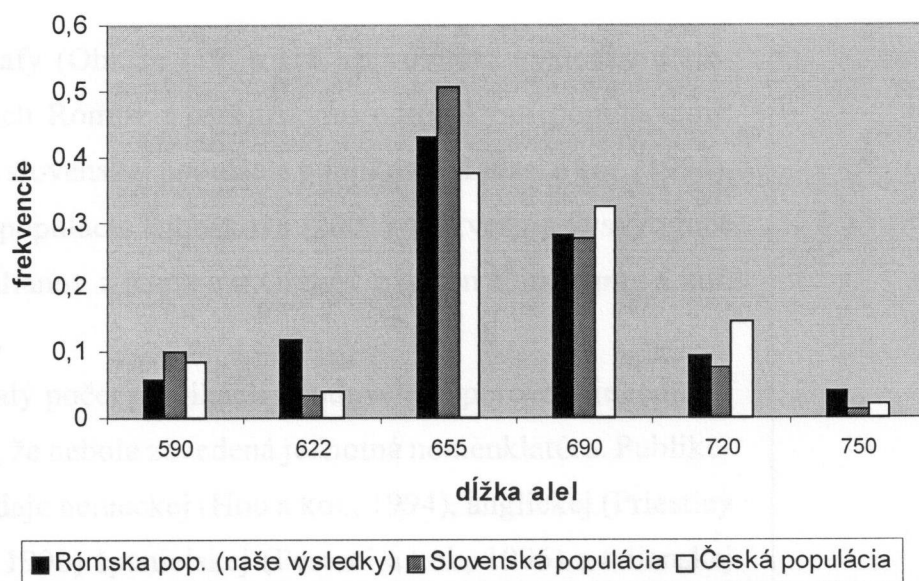
Enzým VspI rozoznáva dva reštrikčné miesta lokalizované na oboch koncoch variabilnej oblasti lokusu. Po štiepení VspI sa získali dva definované a konštantné fragmenty DNA dĺžky 29 bp, 214 bp a fragment variabilnej dĺžky. Fragment s dĺžkou 214 bp môže slúžiť ako presný marker. Variabilné fragmenty Col2A1 VNTR alel vykazujú po vyštípení konštantných fragmentov zreteľne odlišný RFLP. Tento poznatok zvyšuje potenciálne využitie lokusu pri štúdiu vzťahu génu pre kolagén typu II k ochoreniam spojivových tkanív (Horton a kol. 1992a).

Mutácie tohto génu boli nájdené u pacientov s familiárnou osteoartritídou a v spojitosti s chondrodispláziou (Ritvaniemi a kol. 1995). Knowlton a kol. (1989) zistil súvislosť génu Col2A1 s týmito syndrómami.

Prvý dôkaz defektu na Col2A1 u Langer-Saldinovej achondrogenézy a spondyloepifyzálnej dysplázií (SED) bol nález abnormálneho štiepenia kolagénu typu II. cyanogenbromidom. Dôkaz defektu bol potvrdený demonštráciou bodových mutácií Col2A1 u týchto chorôb (Horton a kol. 1992b).

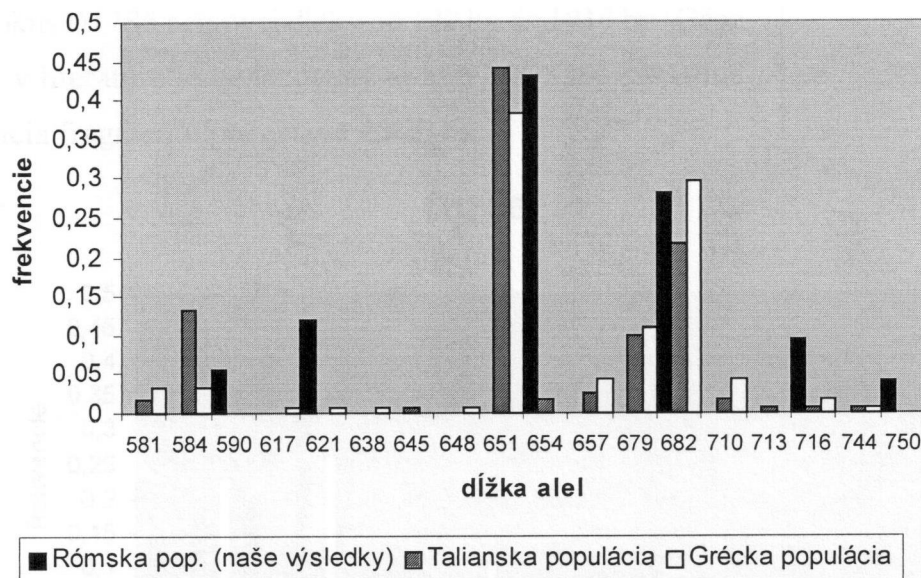
Abnormalita kolagénu typu II. spôsobuje nielen senzori-neurálnu hluchotu, ktorá sprevádza dedičné choroby ako je SED a Sticklerov syndróm, ale kolagén typu II. môže byť terčom autoimunitného procesu v niektorých prípadoch získanej bilaterálnej progresívnej senzori-neurálnej straty sluchu (Helfgott a kol. 1991).

Col2A1



Obr. č. 117.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Col2A1



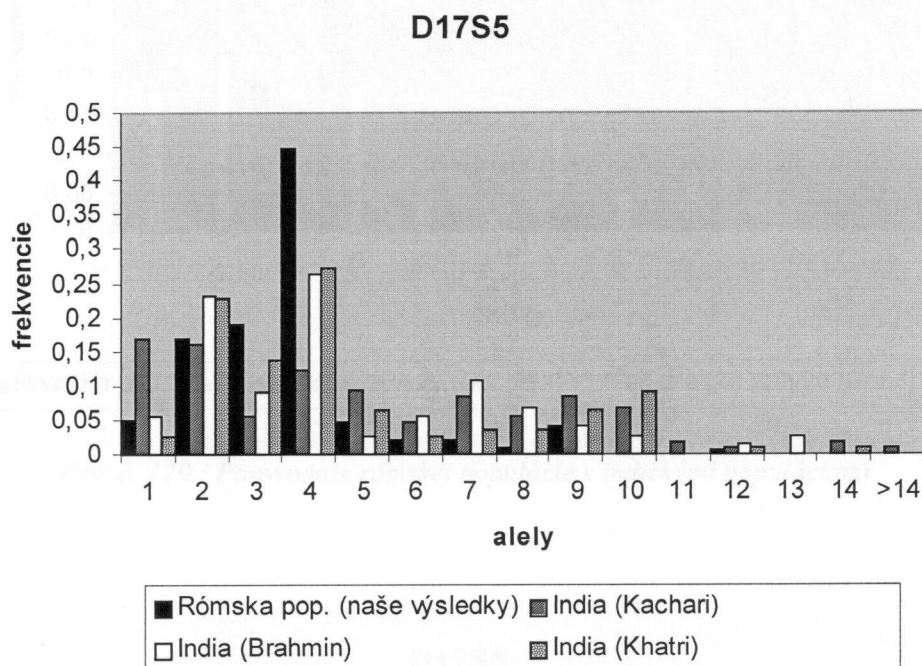
Obr. č. 118.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Grafy (Obr. č. 117. a 118.) porovnáva výsledky u slovenských Rómov s nerómskymi európskymi populáciami: údaje u slovenskej populácie publikoval Kádasi a kol. (1994), českej populácie Řihošková (2001), frekvencie vyskytujúce sa u Talianov z Ríma a u Grékov z Athén Katsuyama a kol. (1998).

Malý počet publikácií vhodných na porovnanie redukuje aj to, že nebola zavedená jednotná nomenklatúra. Publikované údaje nemeckej (Hou a kol., 1994), anglickej (Priestley a kol., 1990) španielskej (Pestoni a kol., 1996) a talianskej (Maviglia a kol., 2001) populácie sme nemohli porovnať s našimi výsledkami. Preto tento lokus z antropogenetického hľadiska stráca na význame.

LOKUS D17S5

Lokus D17S5 celkovej dĺžky od 170 bp do 1010 bp (Gécz 1991), v literatúre je označovaný aj ako D17S30. Základná sekvencia fragmentu pozostáva zo 70 bp.

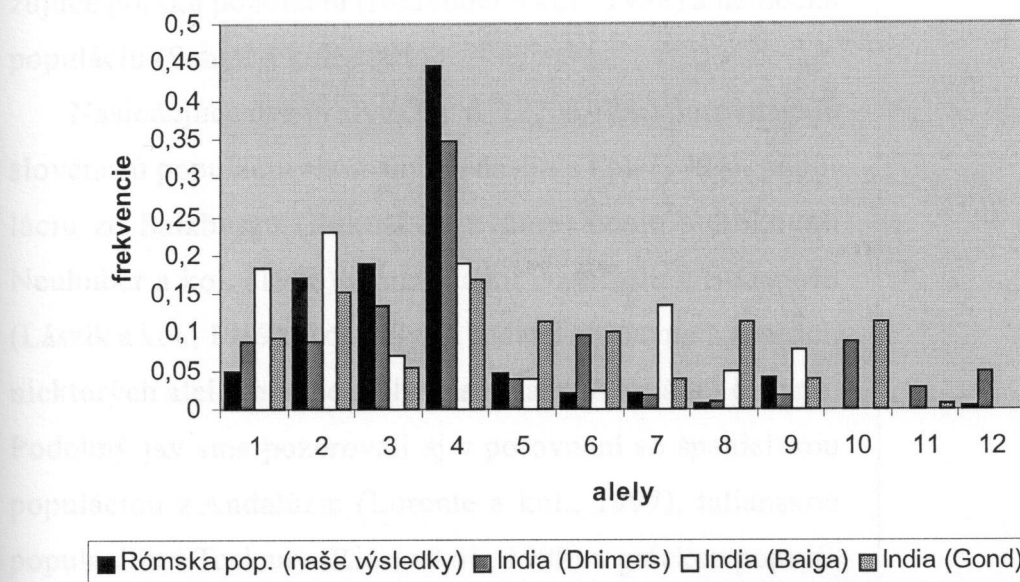


Obr. č. 119.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

Grafy na obrázkoch 119., 120. a sčasti aj 121. predstavujú frekvencie alel zistených u indických populácií v porovnaní s frekvenciami vyskytujúcimi sa u našich Rómov.

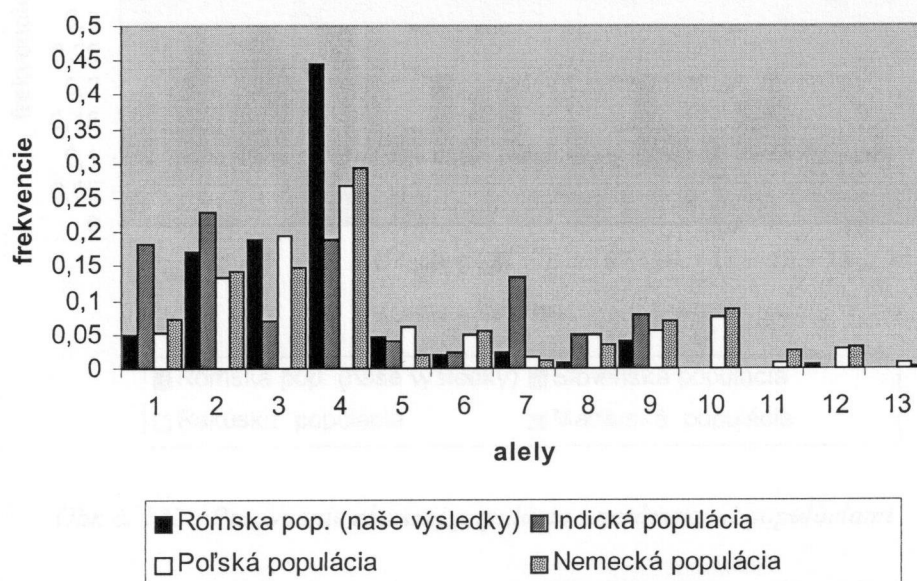
Údaje z kást pochádzajúcich zo strednej Indie Brahmin, Khatri, Dhimers, Baiga a Gond (Mastana a kol., 2000) zo súbornej indickej populácie (Mastana a kol. 2000) a z kasty Kachari (Deka a kol., 1992) sa vo veľkej miere odlišujú od údajov zistených u Rómov z východného Slovenska.

D17S5



Obr. č. 120.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

D17S5

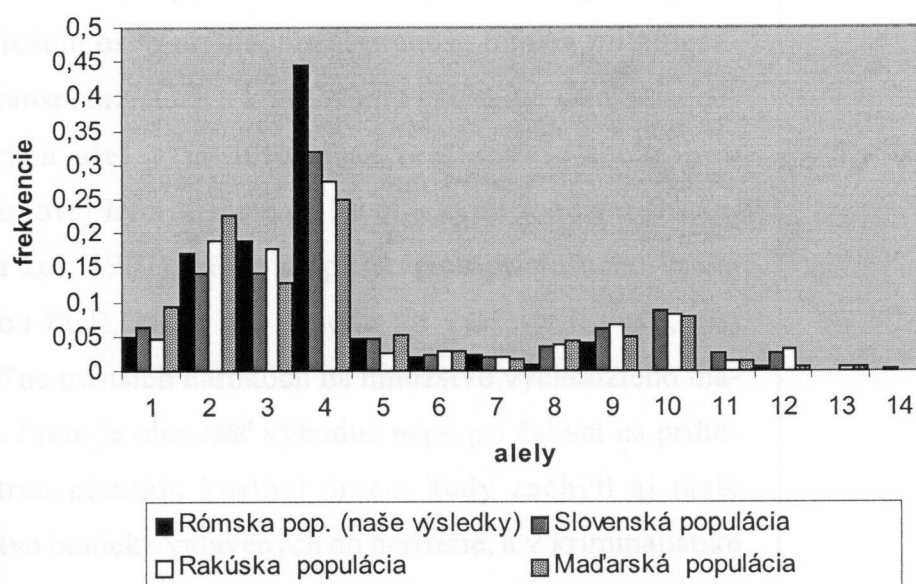


Obr. č. 121.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Graf (Obr. č. 121.) uvádza ďalej frekvencie charakterizujúce poľskú populáciu (Neuhuber a kol., 1998) a nemeckú populáciu (Scheil a kol. 2001).

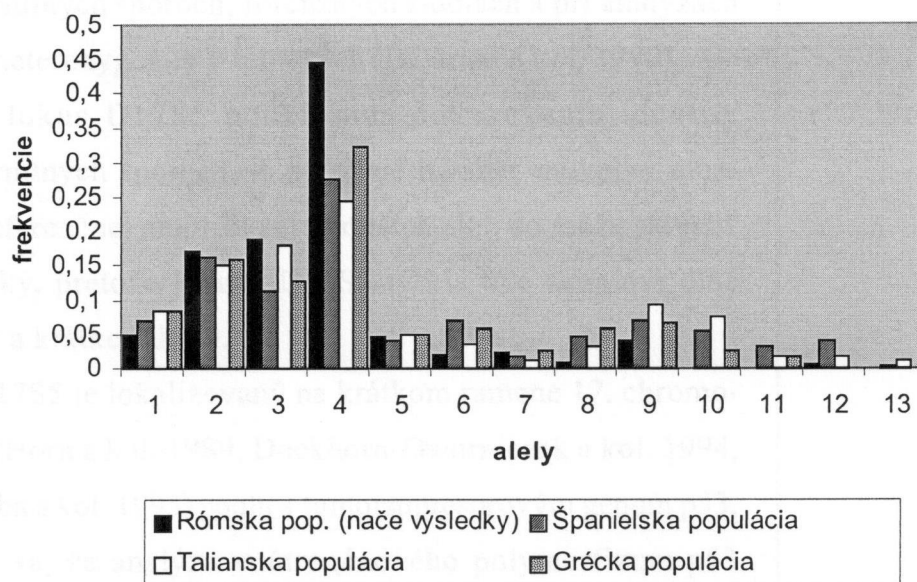
Nasledujúce dva grafy (Obr. č. 122. a 123.) porovnávajú slovenskú populáciu skúmanú Kádasim a kol. (1994), populáciu zo Salzburgu (Rakúsko), z ktorej údaje publikovali Neuhuber a kol. (1998), a maďarskú populáciu z Budapešti (Lászik a kol., 1999). Rozdiely sú badateľné hlavne v absencii niektorých alel – hlavne alel označovaných vyššími číslami. Podobný jav sme pozorovali aj v porovnaní so španielskou populáciou z Andalúzie (Lorente a kol., 1997), talianskou populáciou z Toskany (Ricci a kol., 1998) a gréckou populáciou z Athén (Katsuyama a kol., 1998).

D17S5



Obr. č. 122.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

D17S5



Obr. č. 123.: Porovnanie rómskej populácie s nerómskymi populáciami

Lokus D17S5 patrí medzi lokusy, ktoré sa využívajú na identifikáciu osôb pri sledovaní prenosu buniek pri alogénnych transplantáciách a k určovaniu paternity. Detekcia jednotlivých alel v minulosti sa realizovala technikou Southernovej hybridizácie so špecifickými sondami (Nakamura a kol. 1987), alebo amplifikáciou príslušného úseku metódou PCR, ktorá má výhodu vo vyššej citlivosti, a aj v zreteľne menších nárokoch na množstvo východzieho materiálu. Preto je obzvlášť výhodná napr. pri čakaní na prihojenie transplantátu kostnej drene, kedy zachytí aj malé množstvo buniek vyplavených do periférie, a v kriminalistike (Brdička 1995).

Niektoré publikácie naznačujú (Batarian a kol. 1990, van Tuiner 1988), že D17S5 lokus môže prispieť k diagnostike pacientov s Miller-Dieker syndrómom a ILS (izolovaná lissencefalická sekvencia) založenej na PCR.

PCR typizácia lokusu D17S5 sa môže využiť aj v paternitných sporoch, forenzných štúdiách a pri analýzach straty heterozygotity v tumoroch (Batarian a kol. 1990). Ale ak sa lokus D17S5 používa na dokazovanie identity v paternitných sporoch, je potrebné myslieť na vplyv možnej preferenčnej amplifikácie kratších alel, čo môže skresliť výsledky, pretože lokusy D17S5 tvoria dve skupiny: dlhé lokusy a krátke lokusy.

D17S5 je lokalizovaný na krátkom ramene 17. chromozómu (Horn a kol. 1989, Dockhorn-Dworniczak a kol. 1994, Poremba a kol. 1995) spolu s tumorsupresorovým génom p53. Zistilo sa, že analýza vnútrogénového polymorfizmu p53 v kombinácii s D17S5 zabezpečuje užitočný nástroj na vyhodnotenie straty heterozygotity génu p53 a prispieva k diagnóze tumorov.

Pri prognóze karcinómu prsníka je D17S5 lepším markerom ako p53. Alelická nerovnováha lokusu D17S5 na 17p13.3 slúži ako marker zlej prognózy u pacientov s karcinómom prsníka (Thompson a kol. 1998).

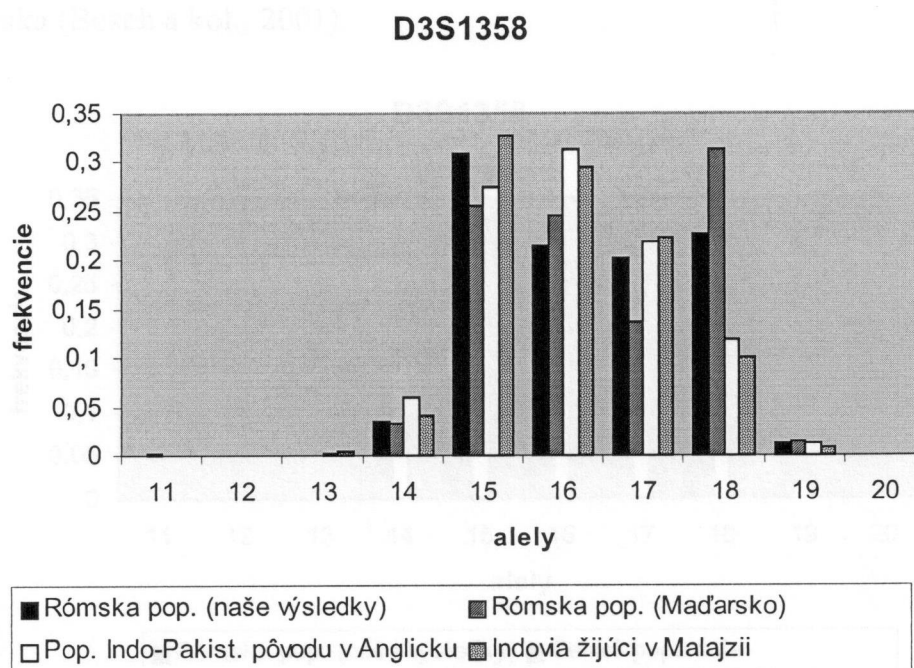
Polymorfizmus lokusu D17S5 bol použitý aj na identifikáciu hidatiformnej moly (Fischer a kol. 1993, Fujita a kol. 1994) a využíva sa aj pri alotransplantácii kostnej drene (Demidová a kol. 1997, Lasfargues a kol. 1995).

Okrem klinickej praxe je tento lokus vysoko informatívny aj pri paternitných sporoch (Pakkala a kol. 1994, Mandich a kol. 1991, Gasparini a kol. 1991).

LOKUS D3S1358

V grafoch na Obr. č. 124. - 171., podobne ako pri VNTR lokusoch, sme populácie rozdelili do niekoľkých skupín. Grafy porovnávajú 1 až 4 populácie zoskupené podľa typu alebo geografickej polohy ktorú osídľujú.

Graf na obrázku č. 124. porovnáva nami sledovanú rómsku populáciu s inými rómskymi a indickými populáciami. Frekvencie alel u Indov z Malajzie (Lim a kol., 2001) a v populácii indo-pakistánskeho pôvodu žijúcej v Anglicku (Foreman a kol. 2001) sa viac podobajú výsledkom pozorovaným u našich Rómov, ako výsledky zistené v rómskej populácii z Maďarska (Egyed a kol., 2000).



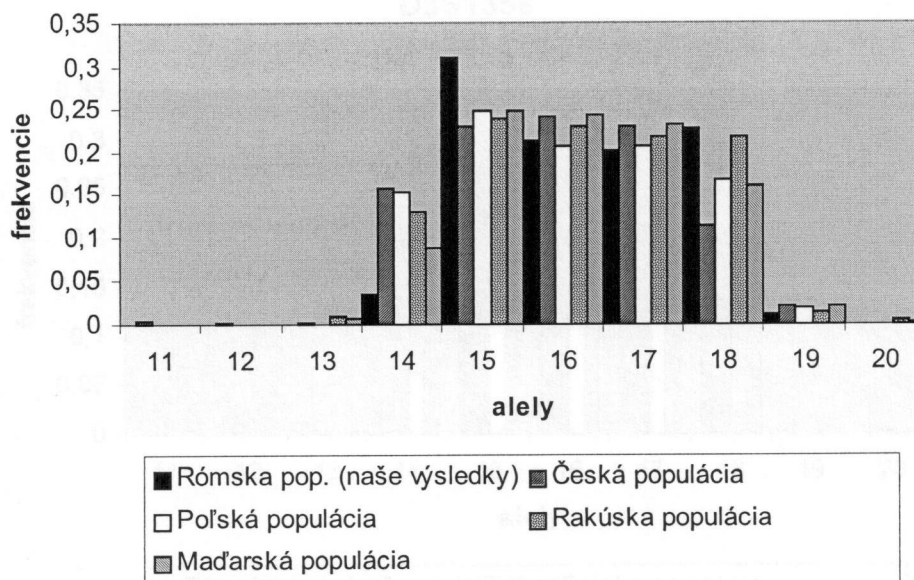
Obr. č. 124.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a indickými populáciami

Porovnaním populácií slovenských Rómov s populáciami z Čiech (Vanek a kol. 2001), zo severovýchodného Poľska (Pepinski a kol., 2001), z Rakúska (Klitschar a kol., 1999) a

z Maďarska (Egyed a kol., 2000) sa zistilo, že alely 11, 12, 13, 16, 17, 19 a 20 lokusu D3S1358 sa vyskytujú s podobnou frekvenciou u všetkých spomínaných populácií (Obr. č. 125.). Frekvencie ostatných európskych populácií, ako napr. u Bavorov z Nemecka (Anslinger a kol., 2001), Španielov z Andalúzie (Sanz a kol., 2001) a Talianov z Milána (Barbaro a kol., 2000) sa už v takej miere nepodobajú (Obr. č. 126.).

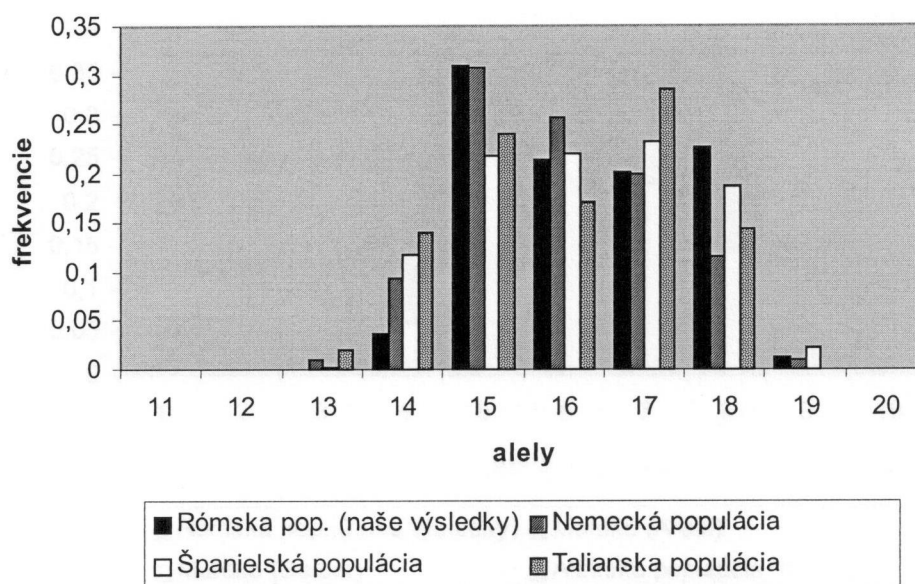
Podobné rozdiely odhaľujú aj obrázky č. 127. a 128., ktoré znázorňujú frekvencie populácií Grékov z gréckej provincie Stredná Makedónia (Kondopoulou a kol., 1999) a Turkov (Akbasak a kol., 2001), a tiež u populácií zo severnej Afriky: zo stredného Egypta (Ahmed a kol., 2001), z Maroka (Arabov a Berberov) (Pérez-Lezaun a kol., 2000) a Berberov z Alžírsk (Bosch a kol., 2001).

D3S1358



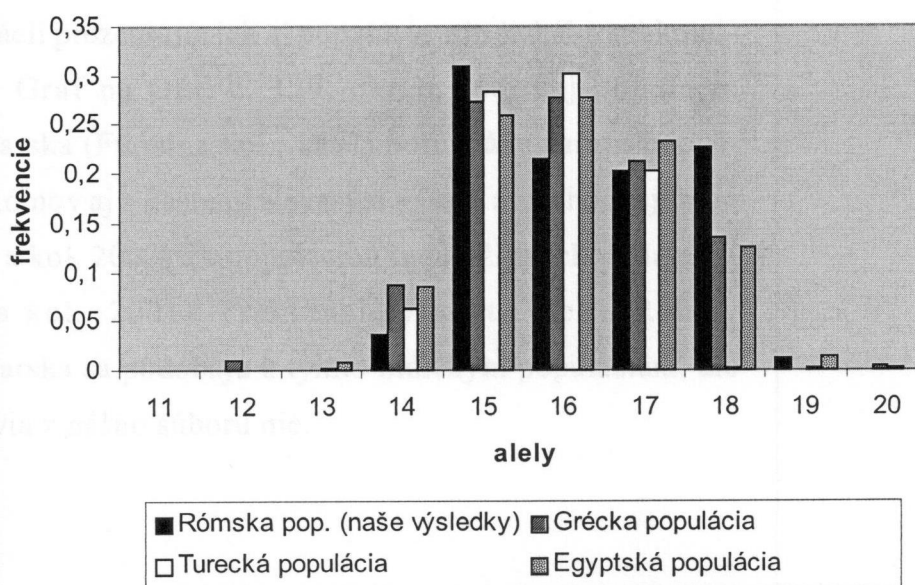
Obr. č. 125.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

D3S1358

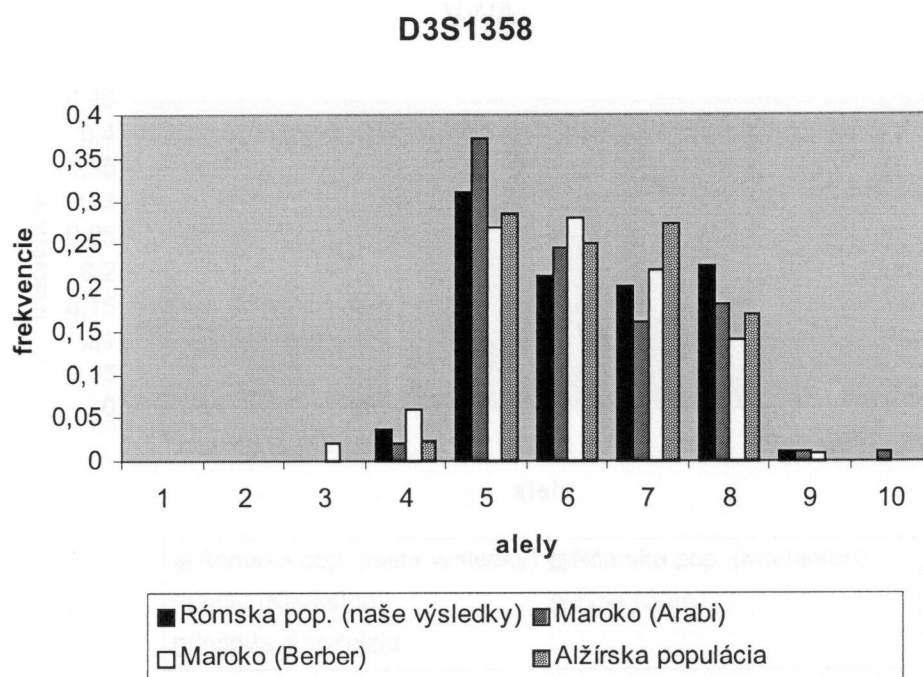


Obr. č. 126.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

D3S1358



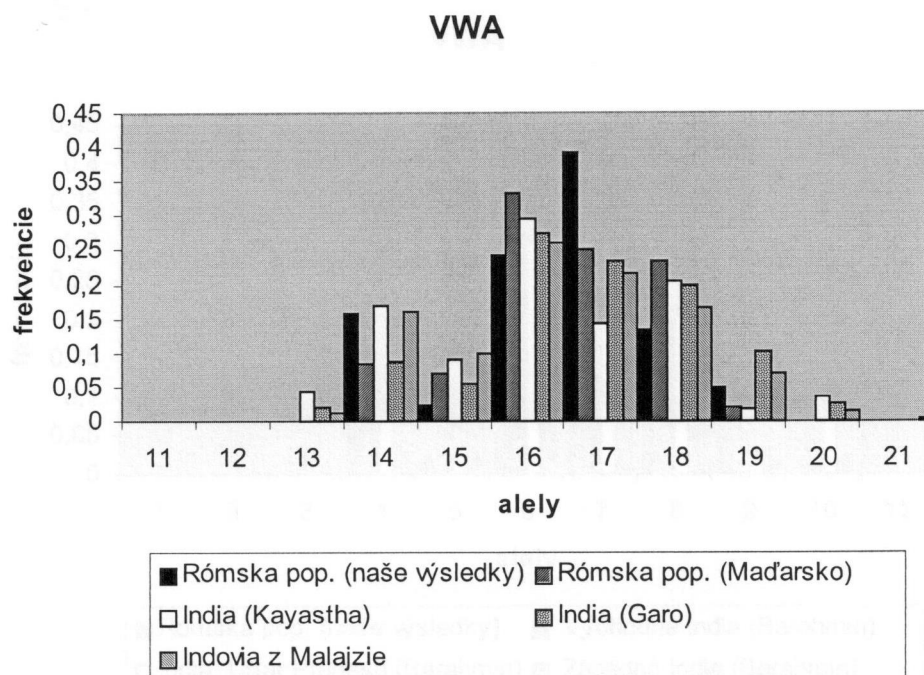
Obr. č. 127.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 128.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS VWA

V prípade VWA lokusu máme k dispozícii pomerne veľa publikácií prezentujúcich aj populácie z indického subkontinentu. Graf na Obr. č. 129. okrem rómskej populácie z Maďarska (Füredi a kol., 1997) porovnáva nami sledovaných Rómov aj s kastami Kayastha a Garo z východnej Indie (Dutta a kol., 2000) a s populáciou Indov žijúcich v Malajzii (Lim a kol., 2001). Frekvencie výskytu alel u Rómov z Maďarska sa podobajú k týmto indickým populáciám, ale Rómovia z nášho súboru nie.

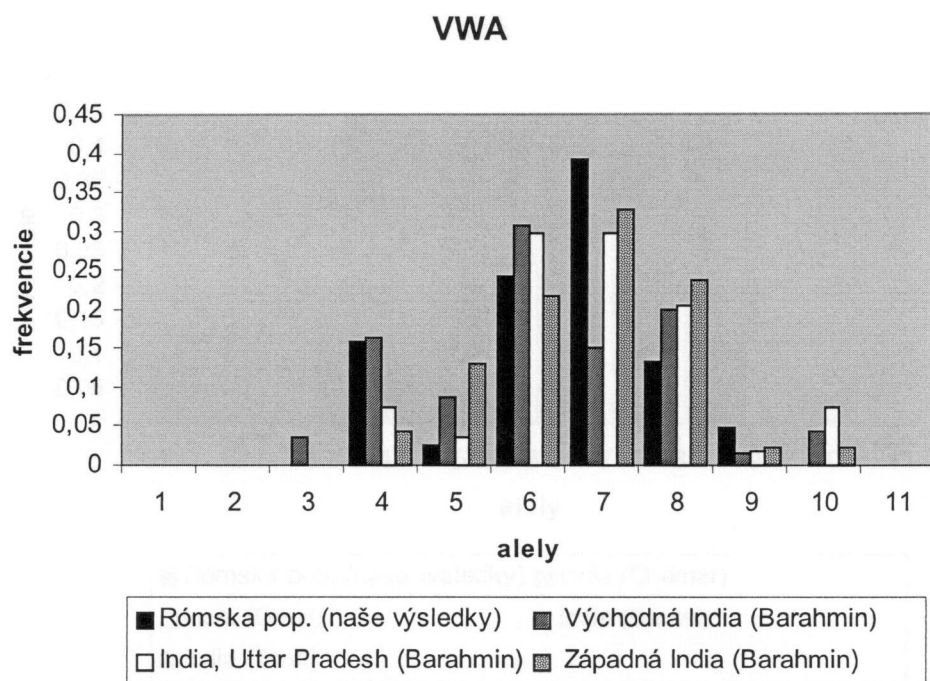


Obr. č. 129.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a indickými populáciami

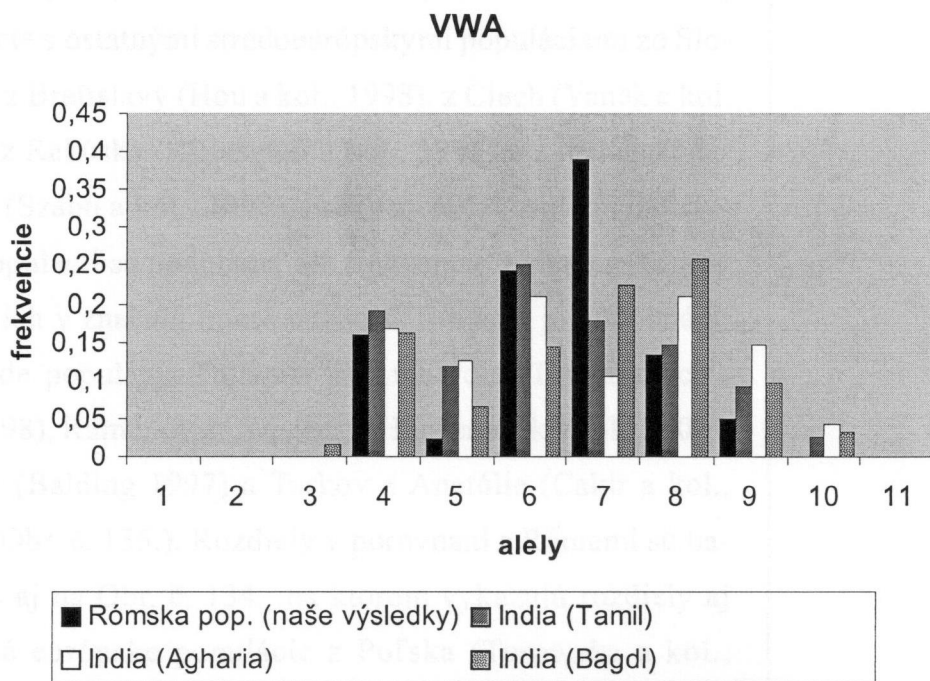
Podobnosť nie je badateľná ani medzi našimi Rómami a brahminskými skupinami z rôznych oblastí Indie: frekvencie výskytu jednotlivých alel lokusu VWA u Brahminov z východnej Indie publikovali Dutta a kol. (2000), Brahminov z Uttar Pradeshu a zo západného Bengálska Mukherjee a kol. (1999).

Úplne rozdielne frekvencie alel sa vyskytujú u ďalších indických populáciách: u Tamilov z južnej Indie (Panneerchelvam a kol., 2001) a u Aghariov a Bagdiav (Mukherjee a kol., 1999) (Obr. č. 131). Tieto populácie sa v značnej miere odlišujú aj navzájom.

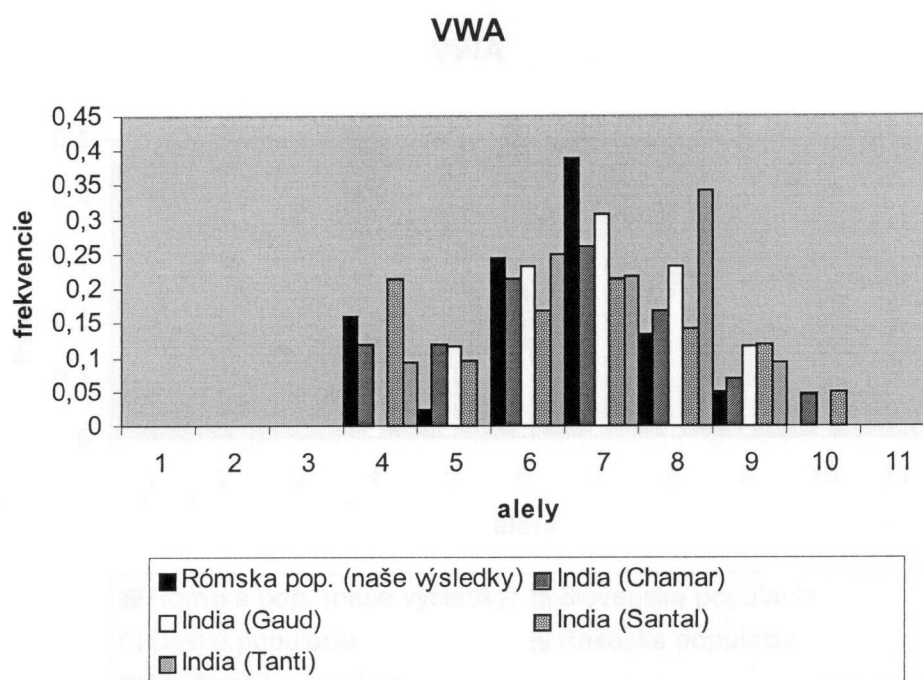
Mukherjee a kol. (1999) publikovali frekvencie výskytu alel lokusu VWA aj u mnohých iných indických kást, ako napr. u Chamarov, Gaudov, Tantiov a Santalov (Obr. č. 132.). Počet sledovaných vzoriek jednotlivých populácií nie je vysoká, pohybuje sa od 26 do 42 vzoriek.



Obr. č. 130.: Porovnanie rómskej populácie s indickými brahminskými populáciami

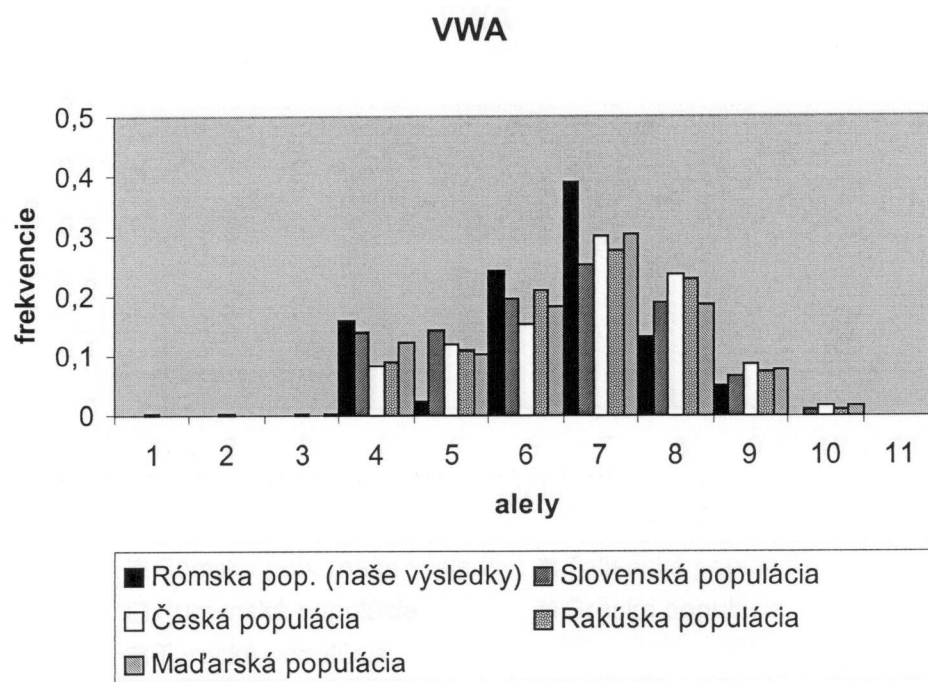


Obr. č. 131.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

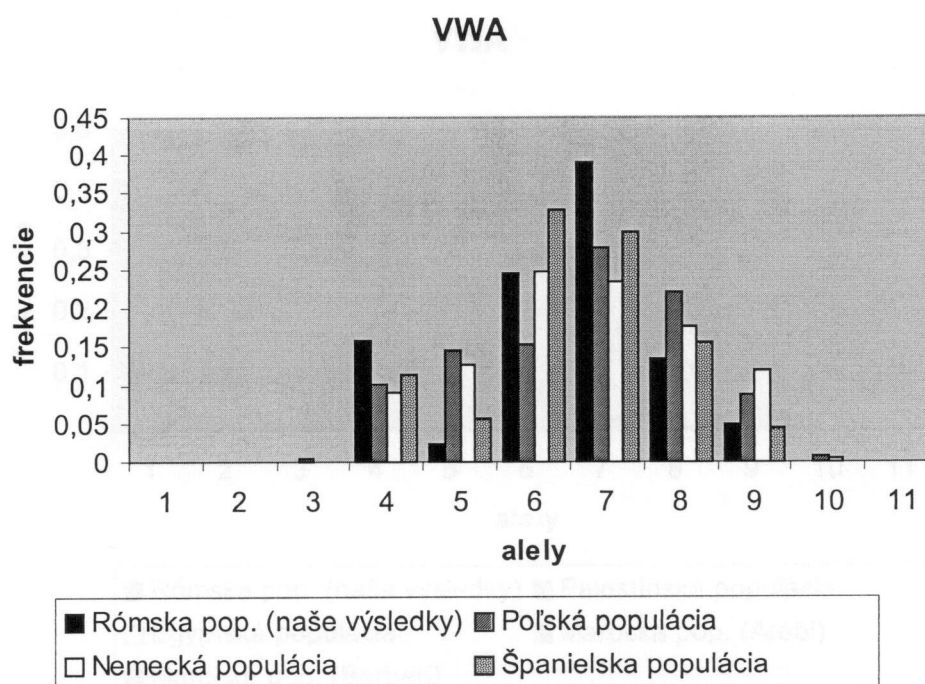


Obr. č. 132.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

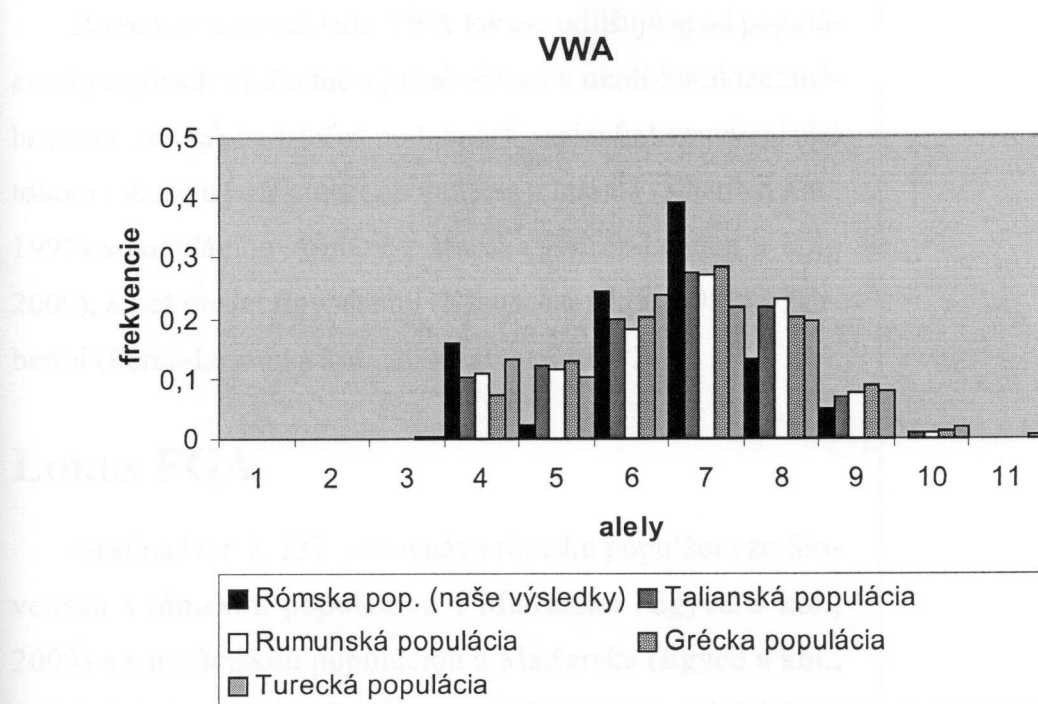
Ďalší graf (Obr. č. 133.) znázorňuje porovnanie rómskej populácie s ostatnými stredoeurópskymi populáciami zo Slovenska z Bratislavy (Hou a kol., 1998), z Čiech (Vanek a kol. 2001), z Rakúska (Klitschar a kol., 1998) a z južného Maďarska (Szabo a kol., 1998). Frekvencie lokusov týchto štyroch populácií sa podobajú, ale frekvencie zistené u Rómov sa od nich v značnej miere odlišujú. Situácia je podobná aj v prípade populácie Talianov z Lombardie (Tagliabracci a kol., 1998), Rumunov z Constanty (Huckenbeck a kol., 2000), Grékov (Balding 1997) a Turkov z Anatólie (Cakir a kol., 2001) (Obr. č. 135.). Rozdiely v porovnaní s Rómami sú bádateľné aj na Obr. č. 134., na ktorom vykazujú rozdiely aj uvedené európske populácie z Poľska (Turowska a kol., 2000), Bavorov z Nemecka (Anslinger a kol., 2001) a Španielov z Andalúzie (Yunis a kol., 2000).



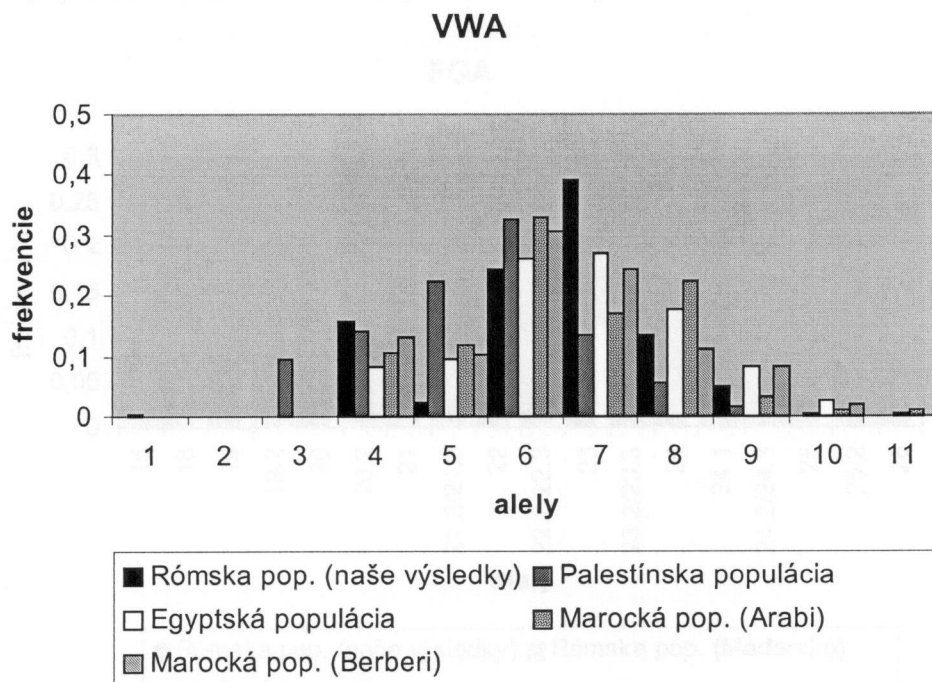
Obr. č. 133.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 134.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 135.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

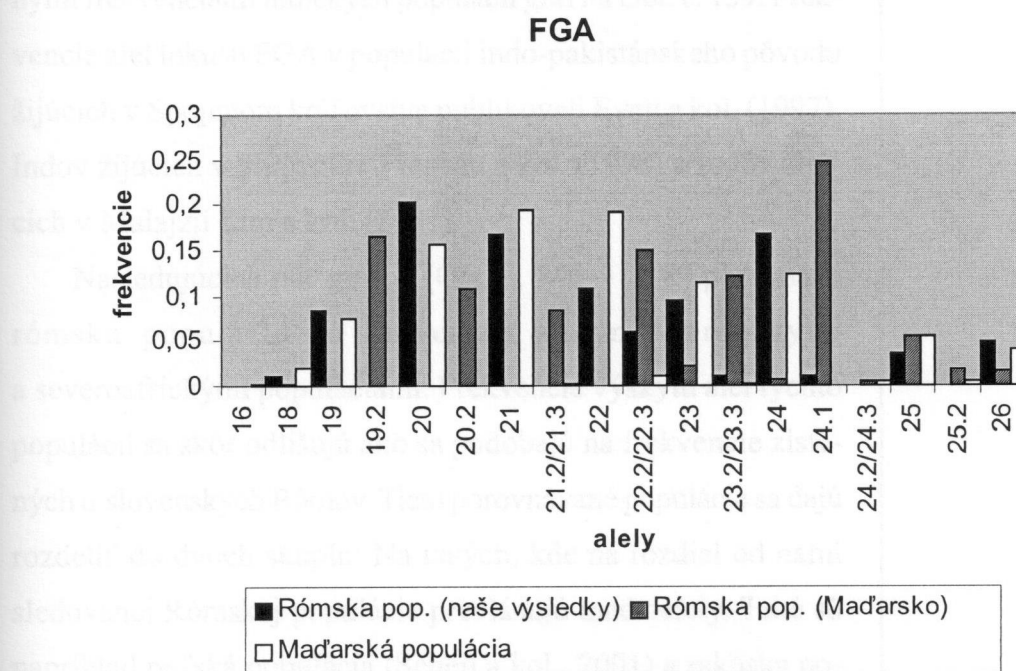


Obr. č. 136.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

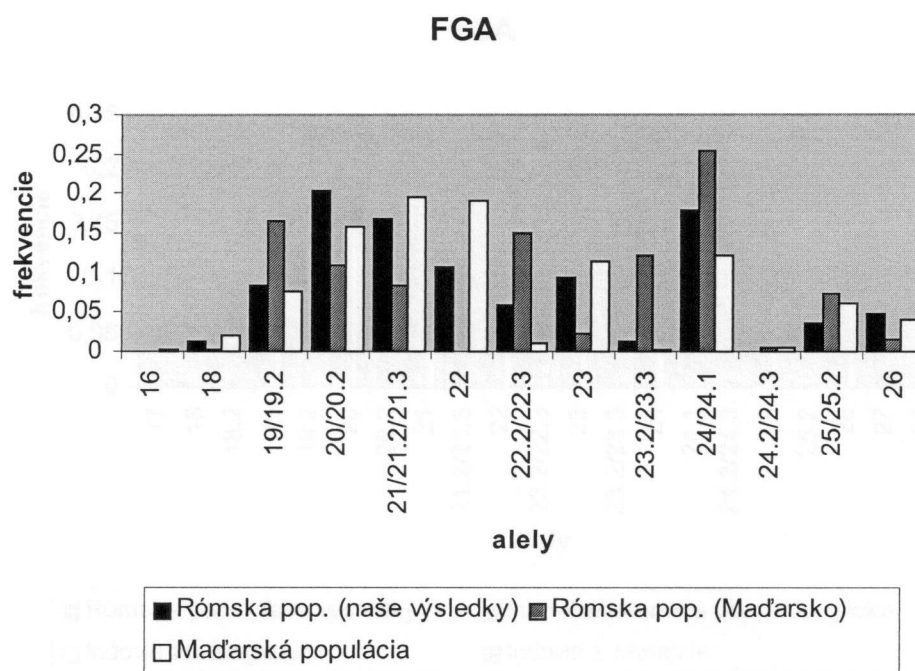
Rómovia sa na základe VWA lokusu odlišujú aj od populácií obývajúcich východné a južné oblasti v okolí Stredozemného mora. Je však badateľná podobnosť medzi frekvenciami alel tohoto lokusu u palestínskej populácie z Izraela (Khatib a kol., 1997) s populáciou Arabov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000); a tiež medzi Egypťanmi (Klitschar a kol., 1999) a Berbermi (Pérez-Lezaun a kol., 2000) (Obr. č. 137.).

LOKUS FGA

Graf na Obr. č. 137. porovnáva rómsku populáciu zo Slovenska s rómskou populáciou z Maďarska (Egyed a kol., 2000) a s nerómskou populáciou z Maďarska (Egyed a kol., 2000). U Rómov z Maďarska prevažuje výskyt medzialel, čo sťažuje porovnanie týchto populácií. Graf (Obr. č. 138.) porovnáva tieto tri populácie bez rozlíšenia medzialel. Napriek tomu sa populácie od seba v značnej miere odlišujú.



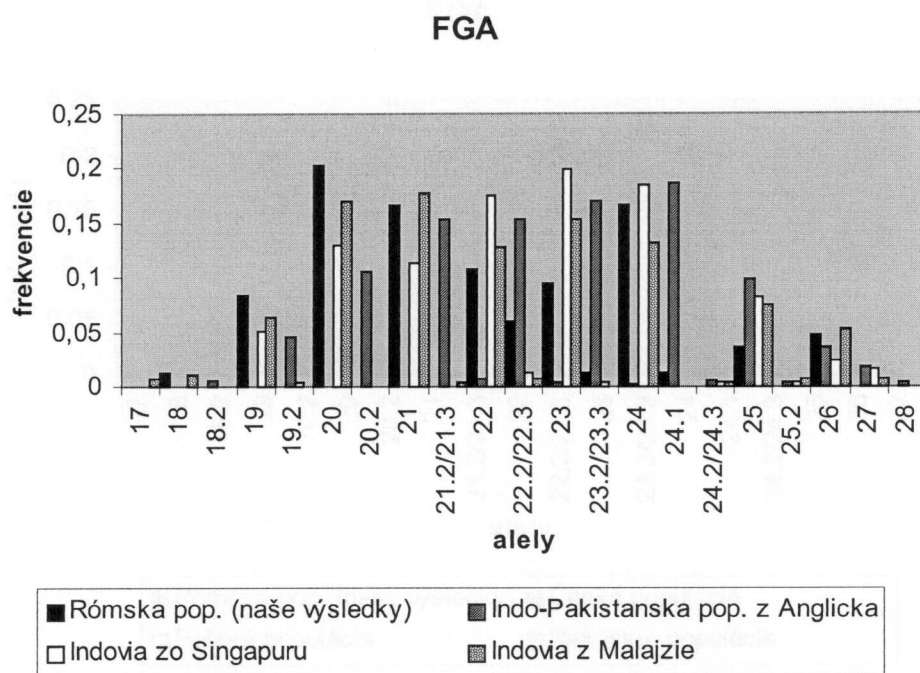
Obr. č. 137.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a nerómskymi populáciami



Obr. č. 138.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a nerómskymi populáciami bez rozlíšenia medzialel

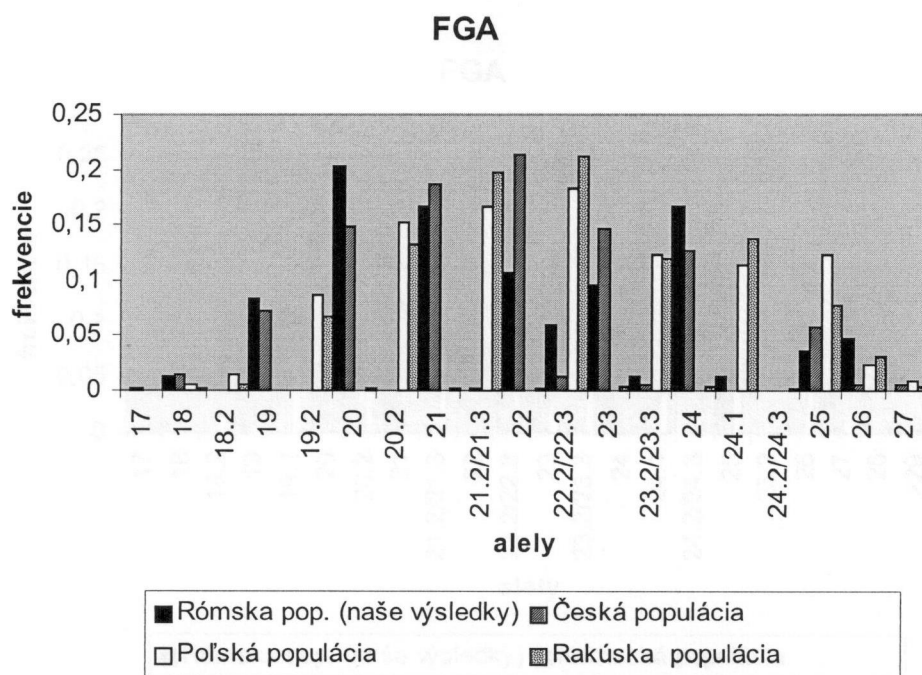
Rómsku populáciu zo Slovenska porovnáva s publiko-va-nými frekvenciami indických populácií graf na Obr. č. 139. Frekvencie alel lokusu FGA v populácii indo-pakistánskeho pôvodu žijúcich v Spojenom kráľovstve publikovali Evett a kol. (1997), Indov žijúcich v Singapúre Frégeau a kol. (1998) a Indov žijúcich v Malajzii Lim a kol. (2001).

Nasledujúcich päť grafov (Obr. č. 140. - 144.) porovnáva rómsku populáciu zo Slovenska s inými európskymi a severoafrickými populáciami. Frekvencie výskytu alel týchto populácií sa skôr odlišujú ako sa podobajú na frekvencie zistených u slovenských Rómov. Tieto porovnávané populácie sa dajú rozdeliť do dvoch skupín: Na takých, kde na rozdiel od nami sledovanej Rómskej populácie prevládajú medzialely. Také sú napríklad poľská populácia (Scheil a kol., 2001) a rakúska po-



Obr. č. 139.: Porovnanie rómskej populácie s inými indickými populáciami

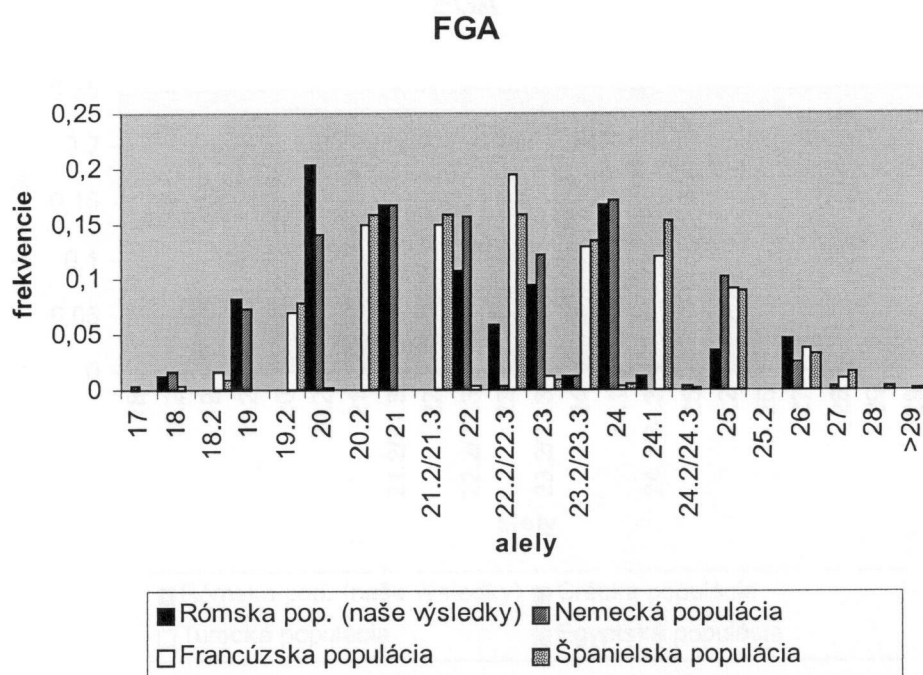
populácia (Dauber a kol., 1998) z Obr. č. 140.; francúzska populácia (Rousselet a kol., 1996, 1997), španielska populácia z Andalúzie (Entrala a kol., 1998) z Obr. č. 141.; talianska populácia (Barbaro a kol., 2000) a rumunská populácia (Huckenbeck a kol., 2001) znázornená na Obr. č. 142.; grécka populácia (Huckenbeck a kol., 2001), turecká (Rolf a kol., 1998) a egyptská populácia (Klitschar a kol., 1998) z Obr. č. 143.; a alžírská populácia (Bosch a kol., 2001) na Obr. č. 144.



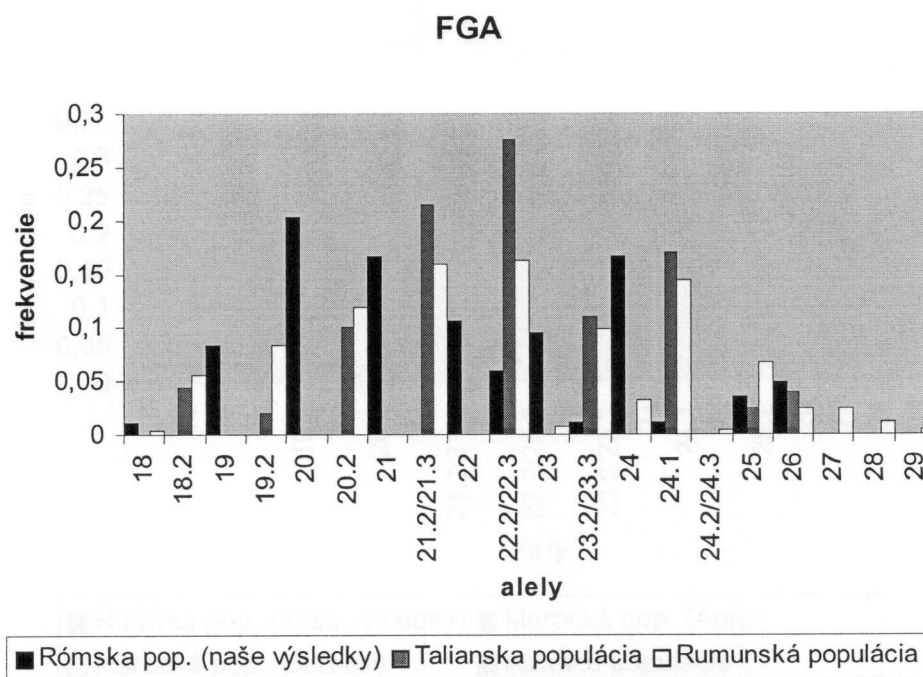
Obr. č. 140.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Na Obr. č. 140., 141. a 144. sa však nachádzajú aj populácie, u ktorých podobne ako v našej rómskej populácii sa medzialely vyskytujú v menšom počte: v českej populácii (Vanek a kol. 2001), u Bavorov z Nemecka (Anslinger a kol., 2001) a u Arabov a Berberov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000).

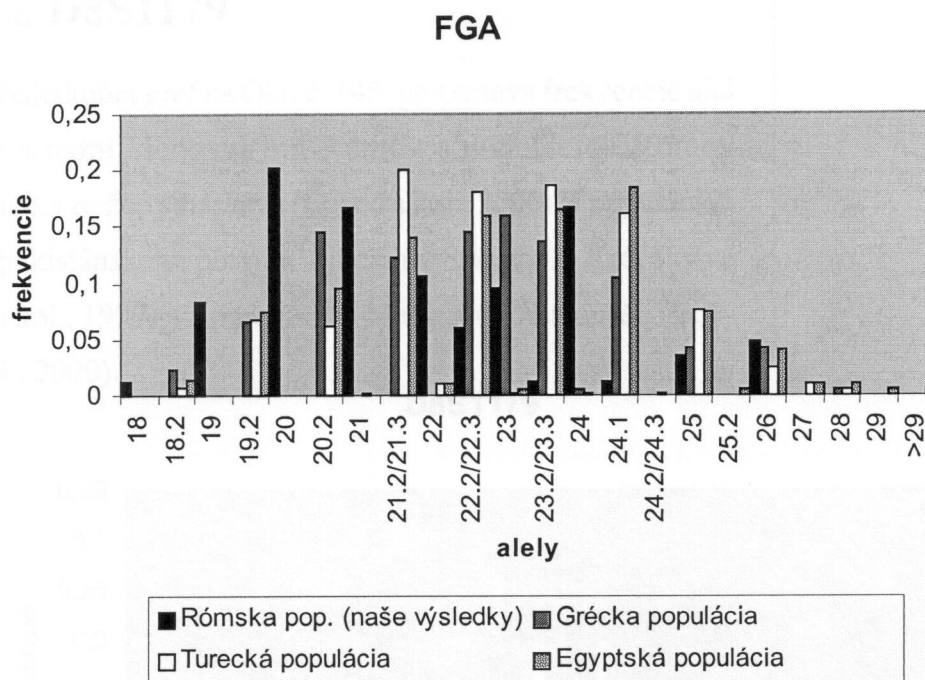
Na základe týchto grafov môžeme usúdiť, že medzi indickými populáciami je pomerne menej takých populácií, v ktorých prevládajú medzialely, podobne ako aj v nami sledovanej rómskej populácii. Napriek častejšiem výskytu populácií s medzialelami, príčinu absencie medzialel v našom prípade nie je možné hľadať v metodike, pretože použitá metódika je dokonale schopná odhaliť prípadnú existenciu medzialel.



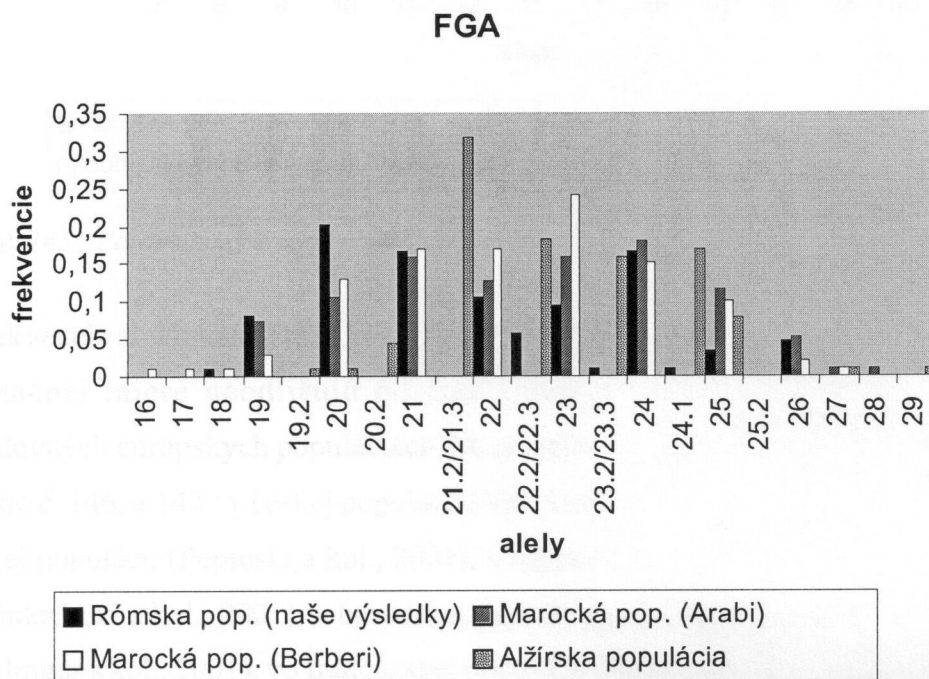
Obr. č. 141.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 142.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 143.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

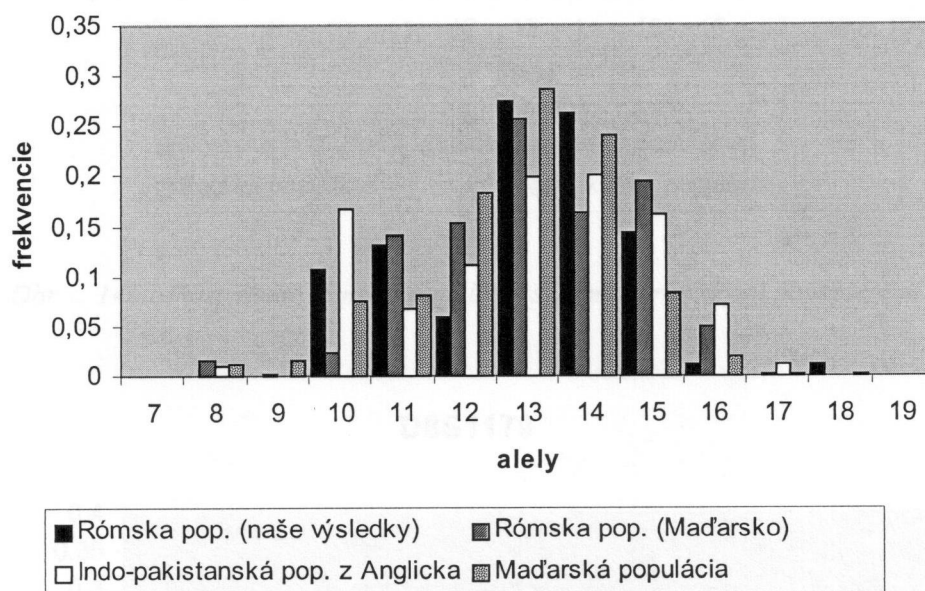


Obr. č. 144.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS D8S1179

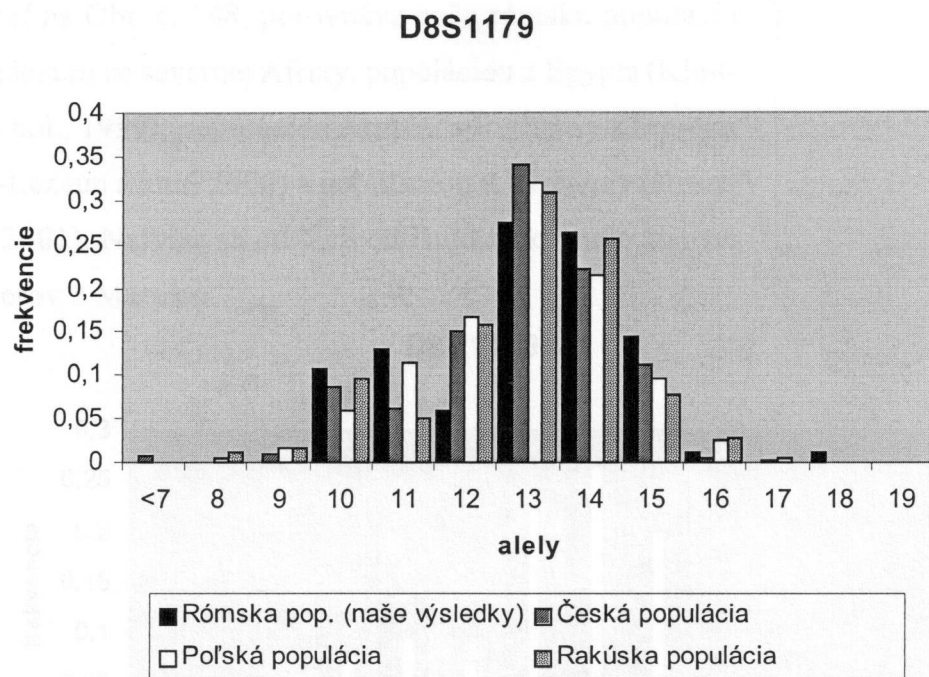
Nasledujúci graf na Obr. č. 145. porovnáva frekvencie alel zistené u nami sledovaných Rómov s populáciou Rómov z Maďarska zo župy Baranya (Egyed a kol., 2000), s populáciou z indo-pakistánskeho pôvodu žijúcich v Spojenom Kráľovstve (Evet a kol., 1997) a s populáciou Maďarov z Budapešti (Egyed a kol., 2000).

D8S1179

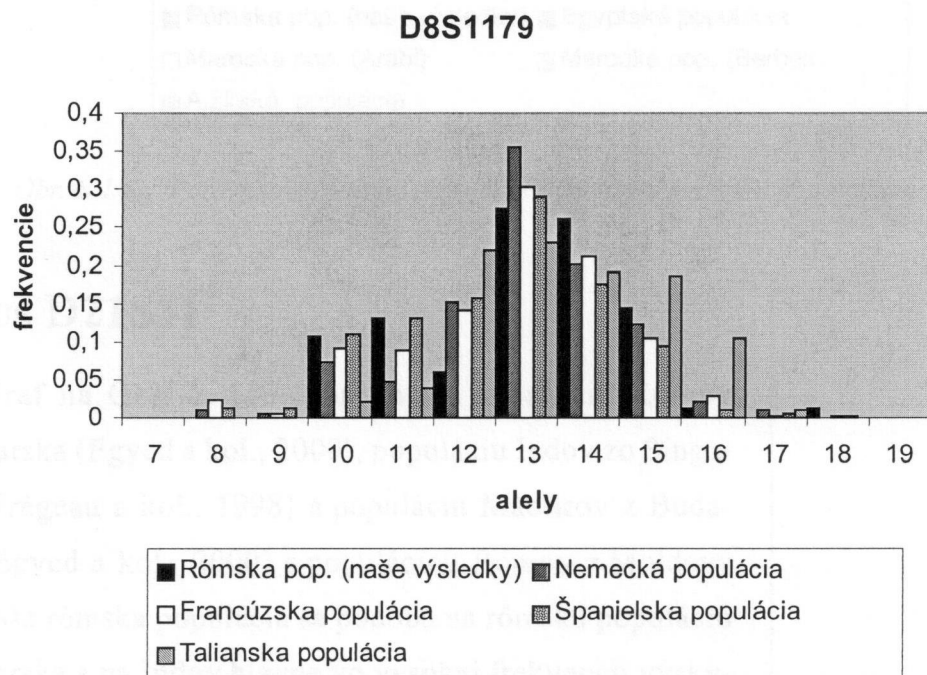


Obr. č. 145.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a nerómskymi populáciami

Frekvencie alel lokusu D8S1179 u Rómov z Moldavy n/B. sa v značnej miere neodlišujú od frekvencií zistených v nasledovných európskych populáciách, ktoré znázorňujú grafy na Obr. č. 146. a 147.: v českej populácii (Vanek a kol. 2001), v poľskej populácii (Pepinski a kol., 2001), v rakúskej populácii (Steinlechner a kol., 2001), v bavorskej populácii z Nemec-ka (Anslinger a kol., 2001), vo francúzskej populácii (Rousset a kol., 1996, 1997), v španielskej populácii z Andalúzie (Sanz a kol., 2001) a v talianskej populácii z Milána (Barbaro a kol., 2000).



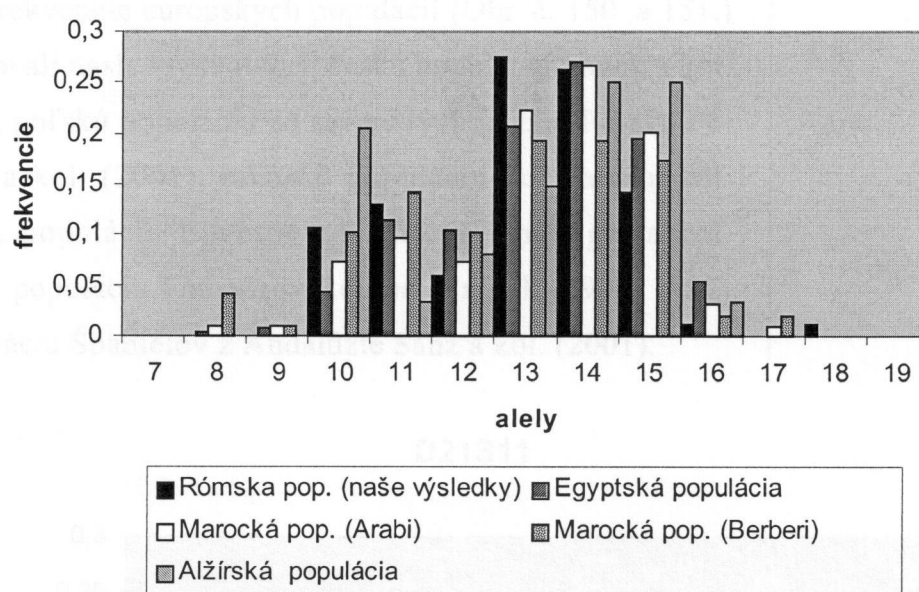
Obr. č. 146.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 147.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Graf na Obr. č. 148. porovnáva našu rómsku populáciu s populáciami zo severnej Afriky: populáciou z Egypta (Klitschar a kol., 1999), populáciou Arabov a Berberov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000) a populáciou Alžírčanov (Bosch a kol., 2001). Najviac sa od nich odlišujú frekvencie zistené u Berberov z Maroka.

D8S1179



Obr. č. 148.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

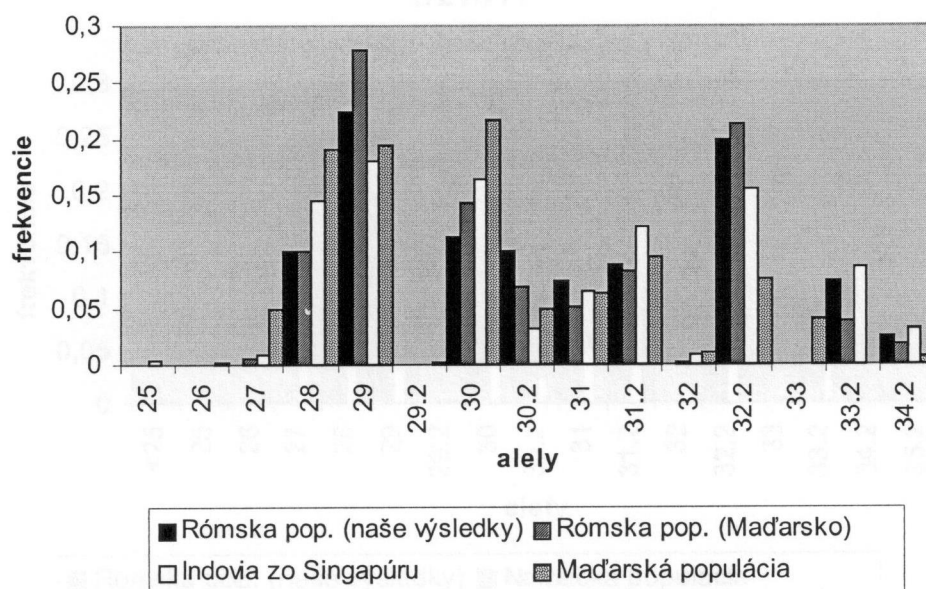
LOKUS D21S11

Graf na Obr. č. 149. porovnáva populáciu Rómov z Maďarska (Egyed a kol., 2000), populáciu Indov zo Singapúru (Frégeau a kol., 1998) a populáciu Maďarov z Budapešti (Egyed a kol., 2000) s populáciou Rómov z Moldavy n/B. Naša rómska populácia sa podobá na rómsku populáciu z Maďarska a na Indov hlavne vo vysokej frekvencii výskytu alely 32.2 a v nízkej frekvencii alely 28 a 30. V populácii Maďarov boli zistené práve opačne: nízka frekvencia alely

32.2 a vysoké frekvencie pre alely 28 a 30. Podobný jav je možné pozorovať aj v prípade ostatných porovnávaných európskych populácií, ktoré znázorňujú obrázky 150., 151. a v menšej miere aj na Obr. č. 152., kde však pri alele 30 už pri talianskej populácii z Milána (Barbaro a kol., 2000) a rumunskej populácii z Ploiesti (Huckenbeck a kol., 2001) nie je badateľný výrazný rozdiel.

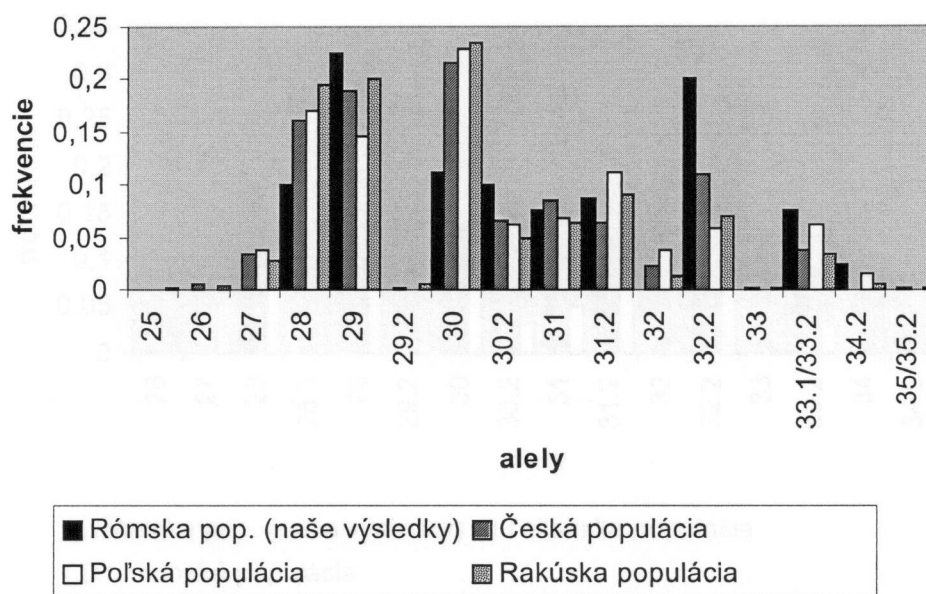
Frekvencie európskych populácií (Obr. č. 150. a 151.) publikovali nasledovní autori: českú populáciu Vanek a kol. (2001), poľskú populáciu zo severovýchodného Poľska Pepinski a kol. (2001), rakúsku populáciu Schwartz a kol. (1996), populáciu Bavorov z Nemecka Anslinger a kol. (2001), populáciu Francúzov Rousselet a kol. (1996, 1997) a populáciu Španielov z Andalúzie Sanz a kol. (2001).

D21S11



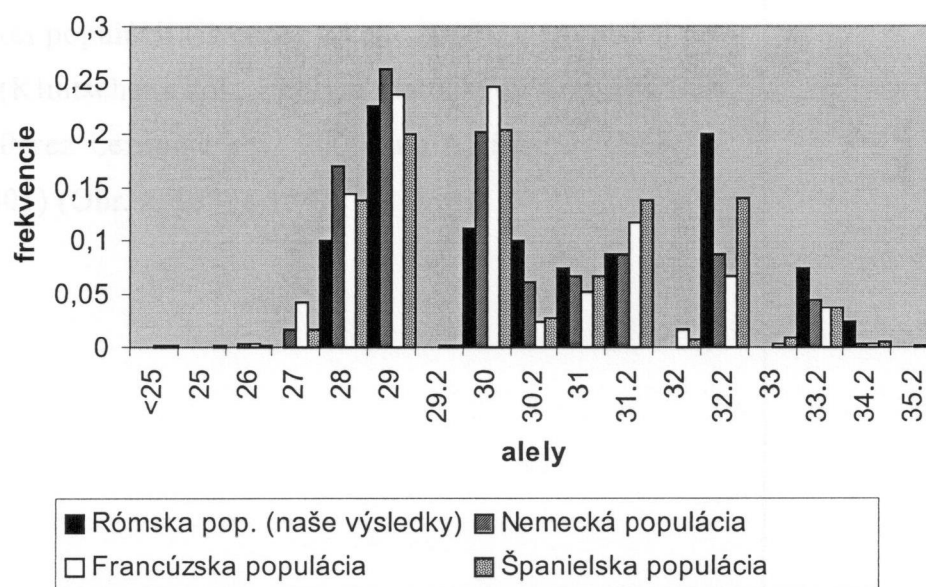
Obr. č. 149.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómскими a nerómskymi populáciami

D21S11



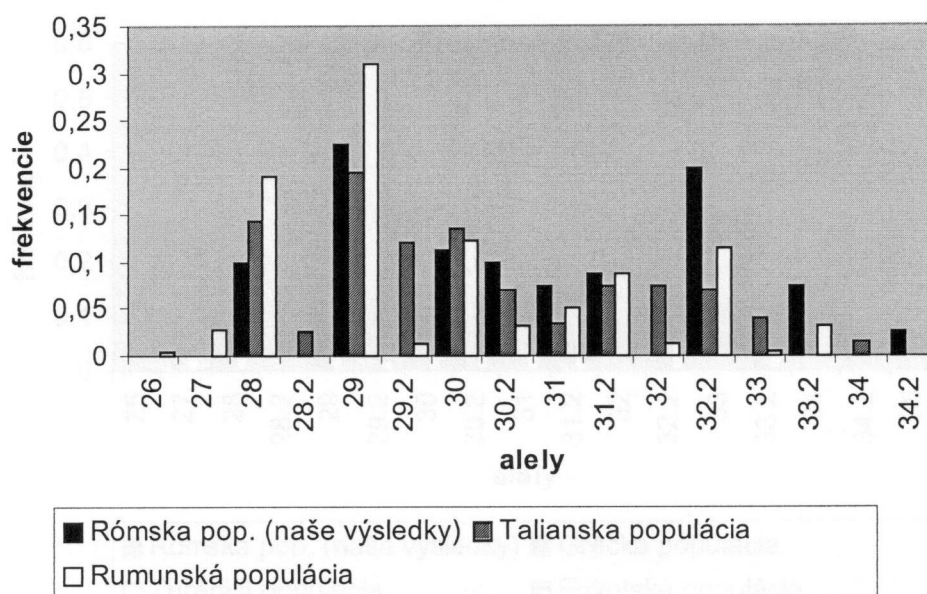
Obr. č. 150.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

D21S11



Obr. č. 151.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

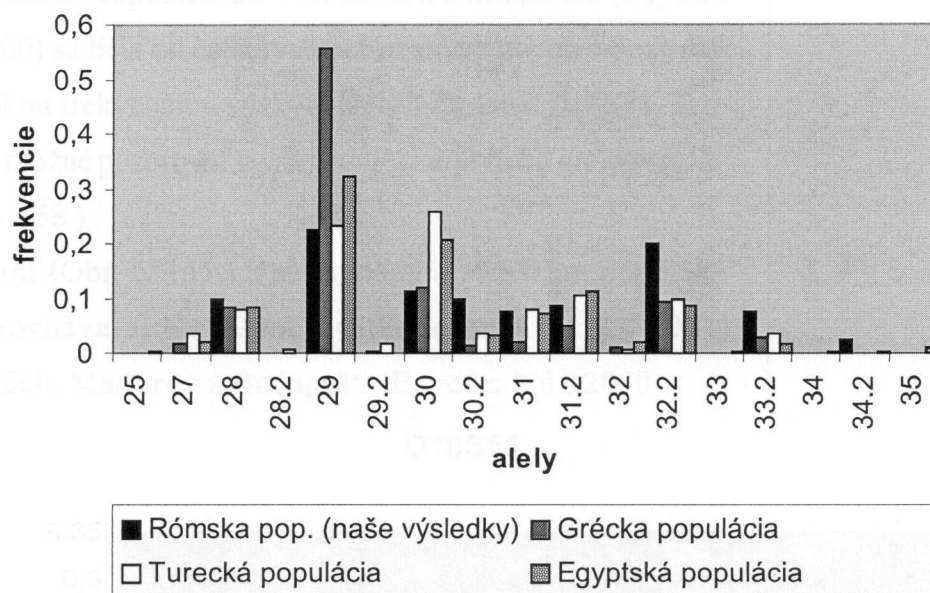
D21S11



Obr. č. 152.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

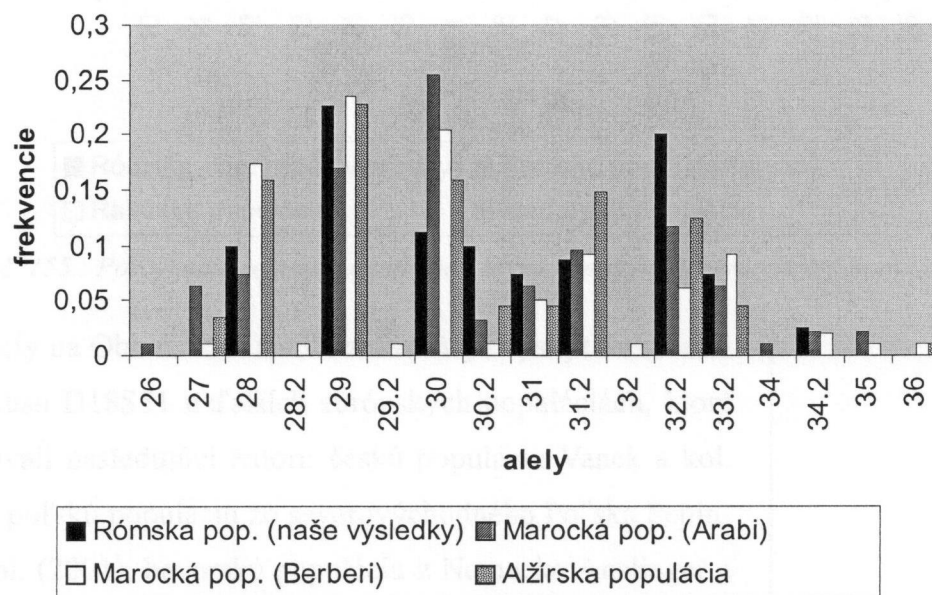
Menej jednoznačný rozdiel je badateľný v prípade alel 28, 30 a 32.2 v nasledovných populáciách: v gréckej populácii zo severovýchodného Grécka (Huckenbeck a kol., 2001), v tureckej populácii (Brenner a kol., 2000), v egyptskej populácii (Klitschar a kol., 1999), u marockých Arabov a Berberov (Pérez-Lezaun a kol., 2000) a u Alžírčanov (Bosch a kol., 2001) (Obr. č. 153. a 154.).

D21S11



Obr. č. 153.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

D21S11

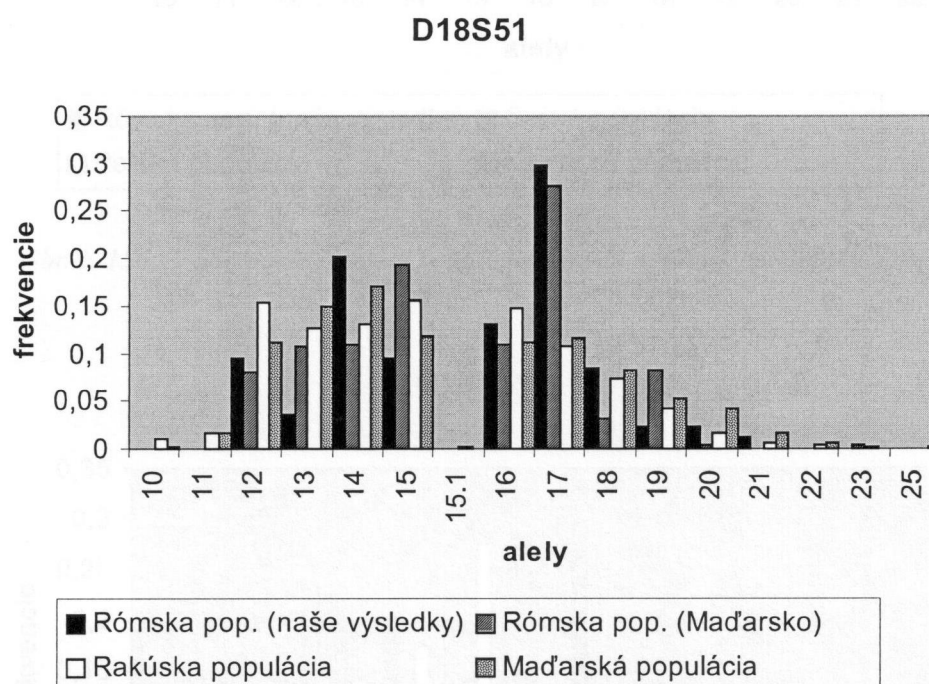


Obr. č. 154.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS D18S51

Rómske populácie zo Slovenska a z Maďarska (Egyed a kol., 2000) sa líšia od ostatných nerómskych populácií extrémne vysokou frekvenciou výskytu alely 17 lokusu D18S51. Tento jav je možné pozorovať na nasledujúcich štyroch grafoch (Orb. č. 155. - 158.).

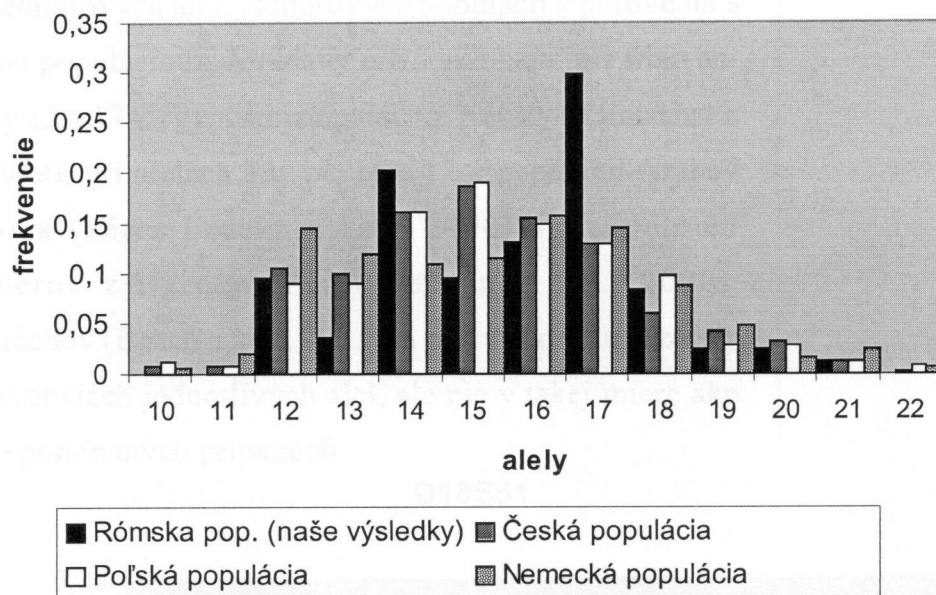
Graf (Obr. č. 155.) k spomínaným rómskym populáciám prirovnáva aj Rakúšanov (Steinlechner a kol., 2001) a populáciu Maďarov z Budapešti (Egyed a kol., 2000).



Obr. č. 155.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a nerómskymi populáciami

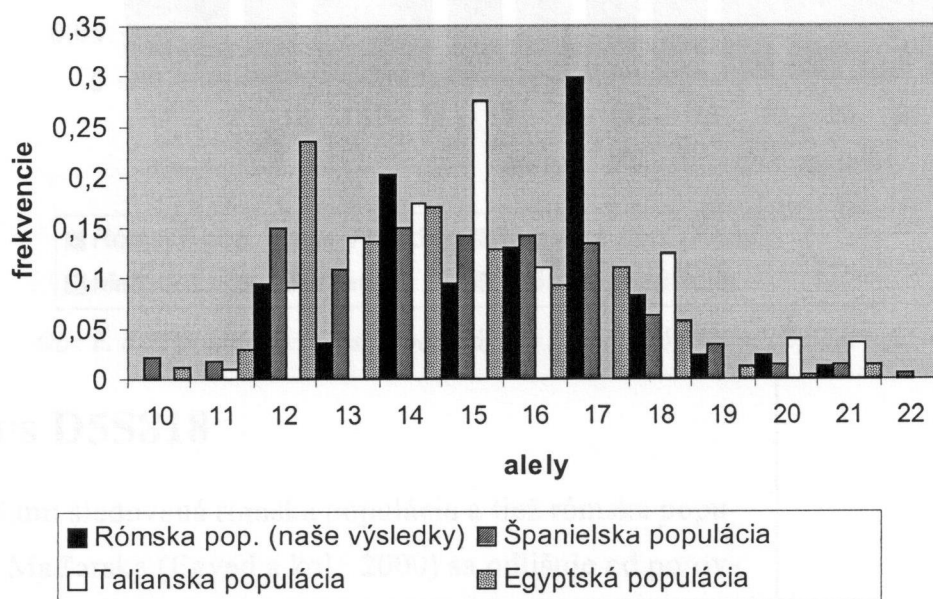
Grafy na Obr. č. 156. a 157. znázorňujú výskyt frekvencií alel lokusu D18S51 u ďalších európskych populáciách, ktoré publikovali nasledujúci autori: českú populáciu Vanek a kol. (2001), poľskú populáciu zo severovýchodného Poľska Pepinski a kol. (2001), bavorskú populáciu z Nemecka Anslinger a kol. (2001), španielsku populáciu z Andalúzie Sanz a kol. (2001) a taliansku populáciu z Milána Barbaro a kol. (2000).

D18S51



Obr. č. 156.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

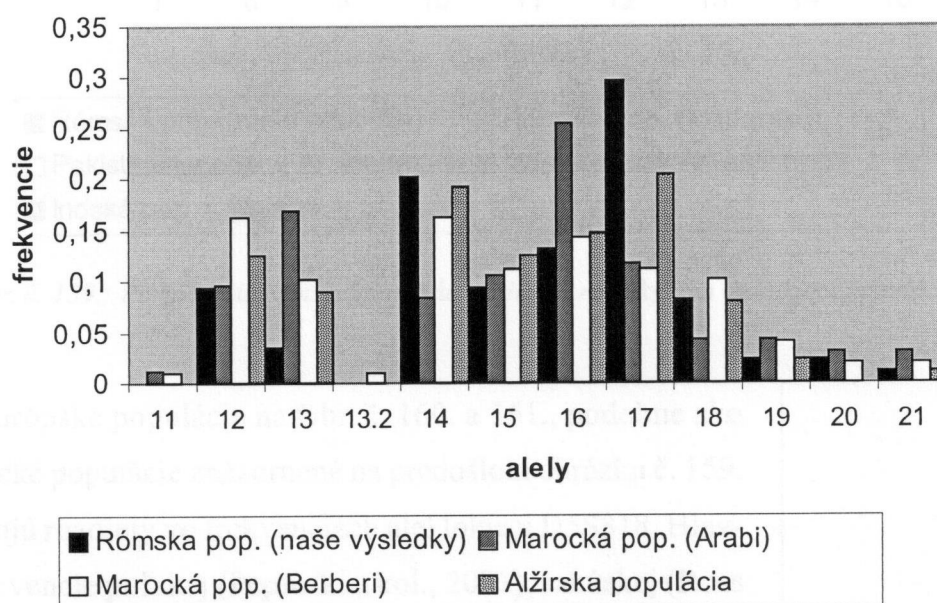
D18S51



Obr. č. 157.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Populácie zo severnej Afriky znázorňujú Obr. č. 157. a 158. Grafy dokazujú rozdiel hlavne vo frekvenciách výskytu jednotlivých alel, jednotlivých populácií v porovnaní s rómskou populáciou z Moldavy n/B., ako napr. pri frekvencii alely 12 a 17 v egyptskej populácii z Káhiry (Klintschar a kol., 1999), pri alelách 13, 14, 16 a 17 v populácii Arabov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000) a pri alele 17 u Berberov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000). U Alžírčanov (Bosch a kol., 2001) sa tiež vyskytujú rozdiely vo frekvenciách jednotlivých alel, ale nie v takej miere ako v hore spomínaných prípadoch.

D18S51

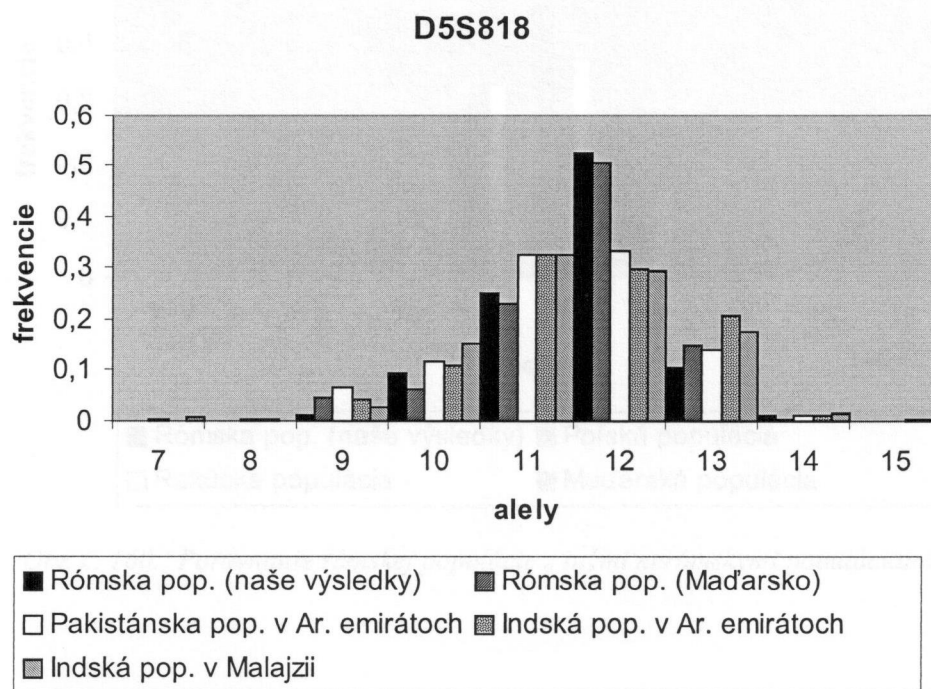


Obr. č. 8.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS D5S818

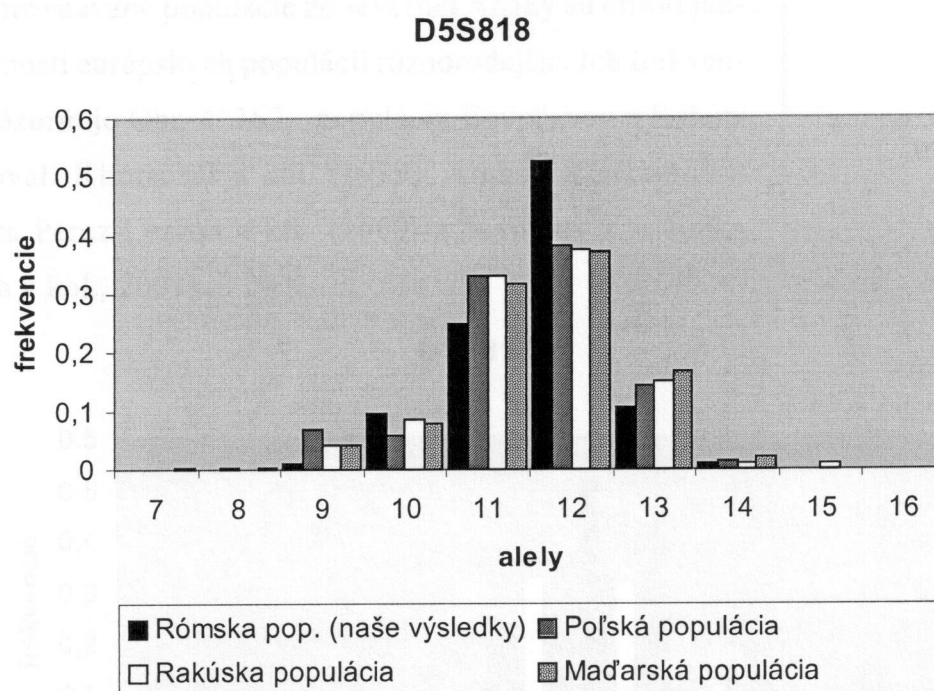
Nami sledovaná rómska populácia a tiež rómska populácia z Maďarska (Egyed a kol., 2000) sa odlišuje od porovnávaných indických populácií hlavne vo frekvencii výskytu alely 12 lokusu D5S818. Graf na Obr. č. 159. prirovnáva

k slovenským Rómom Pakistancov a Indov žijúcich v Spojených arabských emirátoch (Mohammed a kol., 2001), a populáciu Indov žijúcich v Malajzii (Lim a kol., 2001).

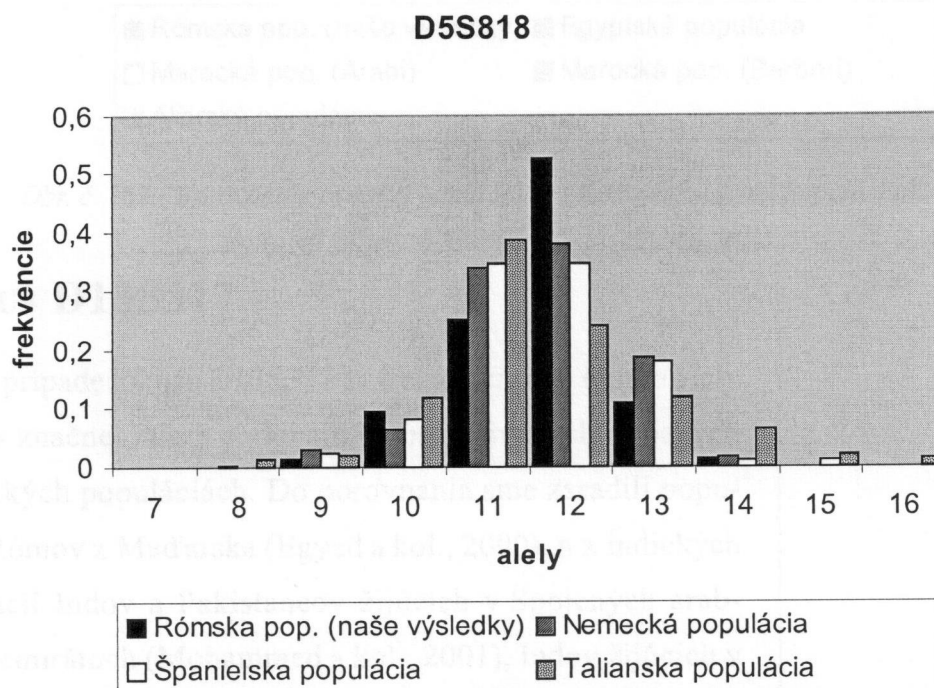


Obr. č. 159.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a indickými populáciami

Európske populácie na Obr. č. 160. a 161., podobne ako aj indické populácie znázornené na predošlom obrázku č. 159. vykazujú rozdiely vo frekvenciách alel lokusu D5S818. Hlavné frekvencie poľskej (Pepinski a kol., 2001), rakúskej (Ross a kol., 2001), maďarskej (Egyed a kol., 2000), nemeckej (Anslinger a kol., 2001) a španielskej (Entrala a kol., 1998) populácie sa veľmi podobajú navzájom, a líšia sa od frekvencií pozorovaných u Rómov. Talianska populácia z Milána (Barbaro a kol., 2000) znázornená na Obr. č. 161. sa líši od rómskej populácie vo frekvenciách alel 11, 12 a 14, ale odlišuje sa aj od ostatných európskych populácií.

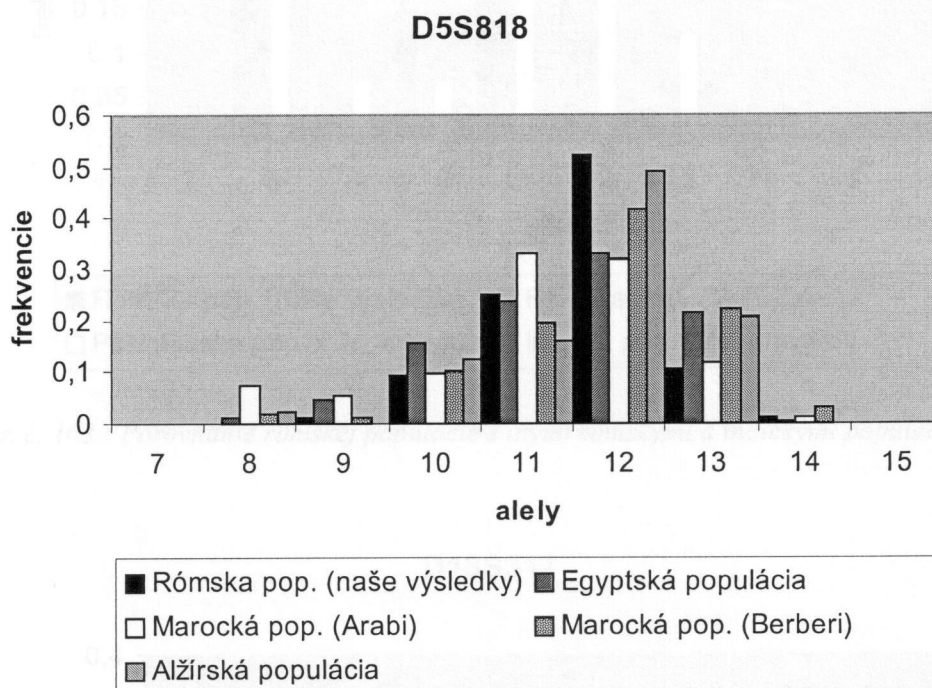


Obr. č. 160.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 161.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Porovnávané populácie zo severnej Afriky sú oproti jednotvárnosti európskych populácií rôznorodejšie. Ich frekvencie znázorňuje Obr. č. 162.: populáciu Egyptanov z Káhiry spracovali Klintschar a kol. (1999), Arabov a Berberov z Maroka Pérez-Lezaun a kol. (2000) a Berberov z Alžírsk (Bosch a kol., 2001).

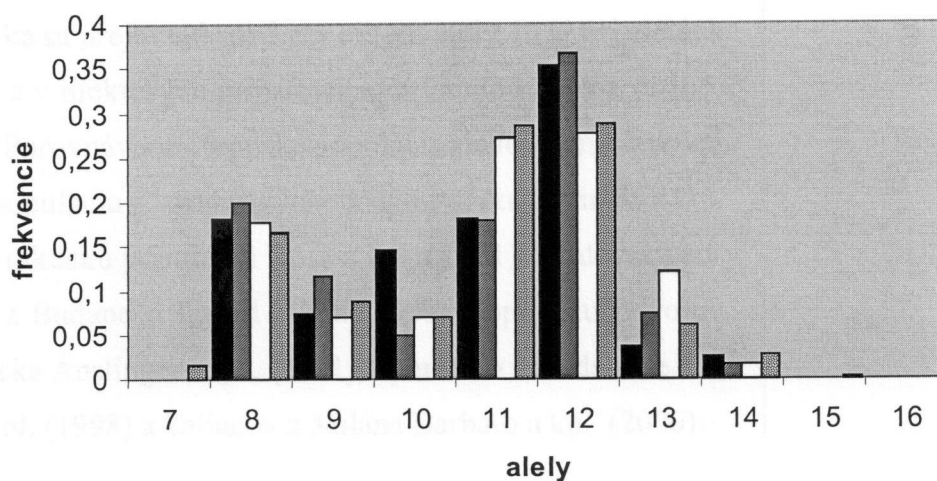


Obr. č. 162.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS D13S317

V prípade lokusu D13S317 sa frekvencie alel okrem alely 10 sa v značnej miere podobajú v porovnávaných rómskych a indických populáciách. Do porovnania sme zaradili populáciu Rómov z Maďarska (Egyed a kol., 2000), a z indických populácií Indov a Pakistancov žijúcich v Spojených arabských emirátoch (Mohammed a kol., 2001), Indov žijúcich v Malajzii (Lim a kol., 2001), a Tamilov z južnej Indie (Panneerchelvam a kol., 2001) (Obr. č. 163. a 164.).

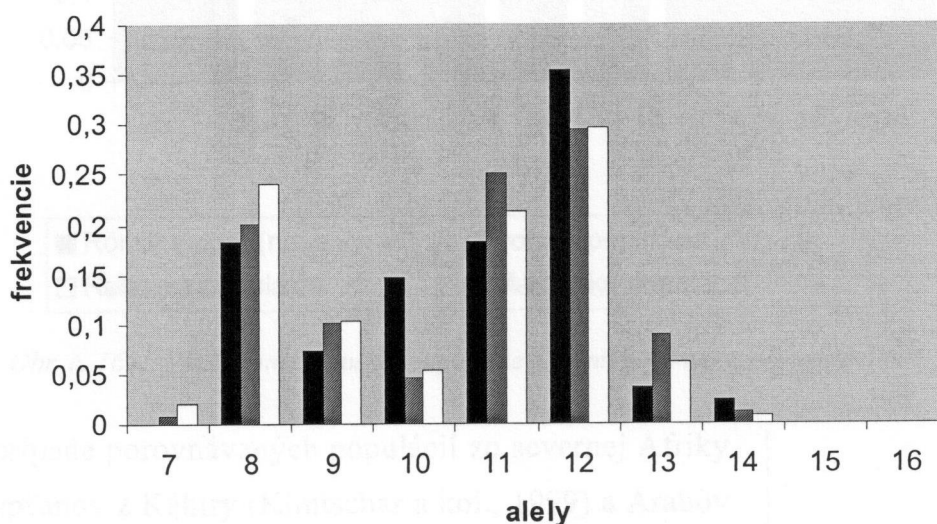
D13S317



■ Rómska pop. (naše výsledky) ■ Rómska pop. (Maďarsko)
 □ Pakistánska pop. z Ar. emirátov ■ Indická pop. z Ar. emirátov

Obr. č. 163.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a indickými populáciami

D13S317

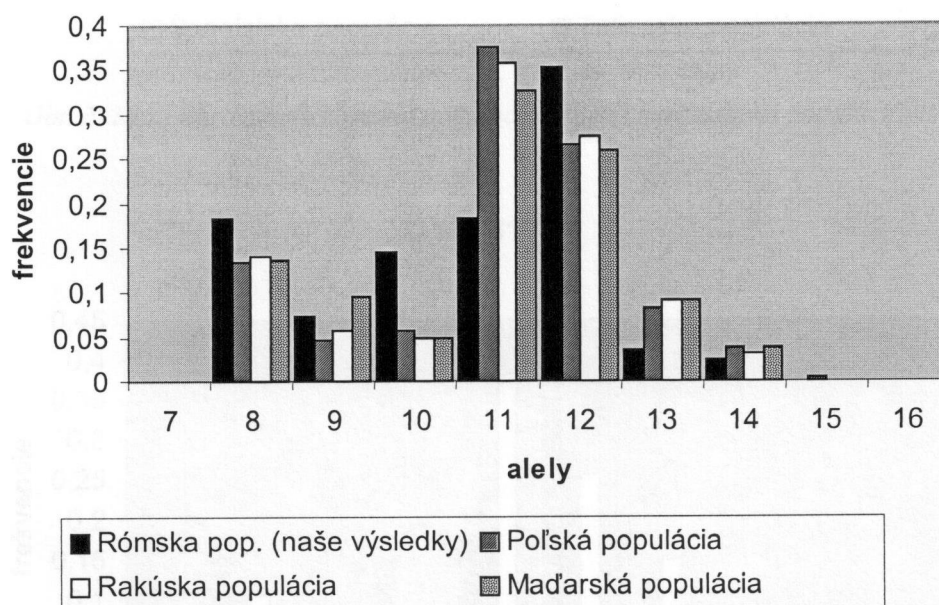


■ Rómska pop. (naše výsledky) ■ Indická po. z Malajzie □ India (Tamil)

Obr. č. 164.: Porovnanie rómskej populácie s indickými populáciami

Vo frekvenciách vyskytujúcich sa v rôznych európskych populáciách v porovnaní s rómskou populáciou z východného Slovenska sa prejavujú rozdiely okrem alely 10 aj pri alelách 11 a 13, a v niektorých prípadoch aj pri alele 12 (Obr. č. 165. a 166.). Porovnávané európske populácie sledovali nasledovní autori: populáciu zo severovýchodného Poľska Pepinski a kol. (2001), rakúsku populáciu Ross a kol. (2001), maďarskú populáciu z Budapešti Egyed a kol. (2000), populáciu Bavorov z Nemecka Anslinger a kol. (2001), Španielov z Andalúzie Entrala a kol. (1998) a Talianov z Milána Barbaro a kol. (2000).

D13S317

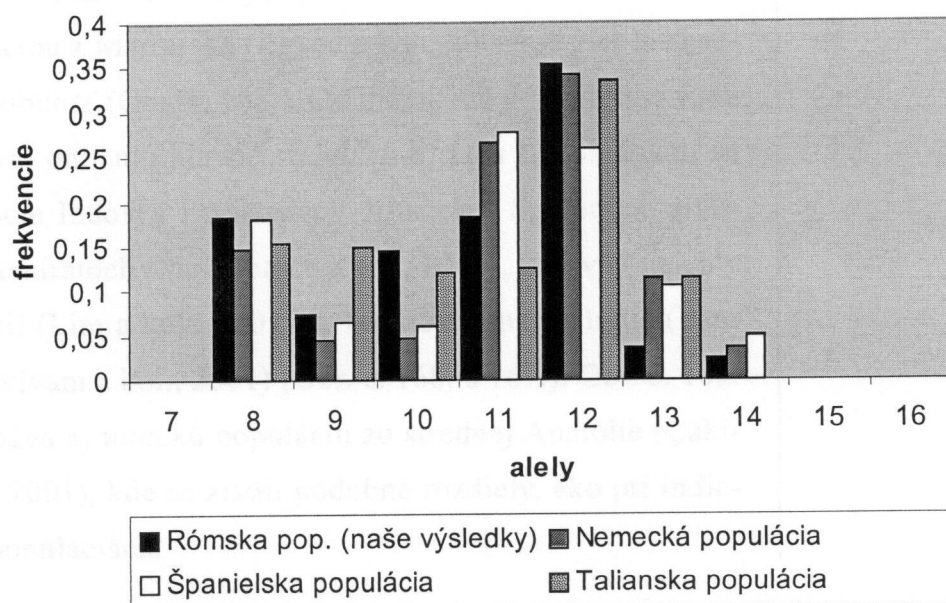


Obr. č. 165.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

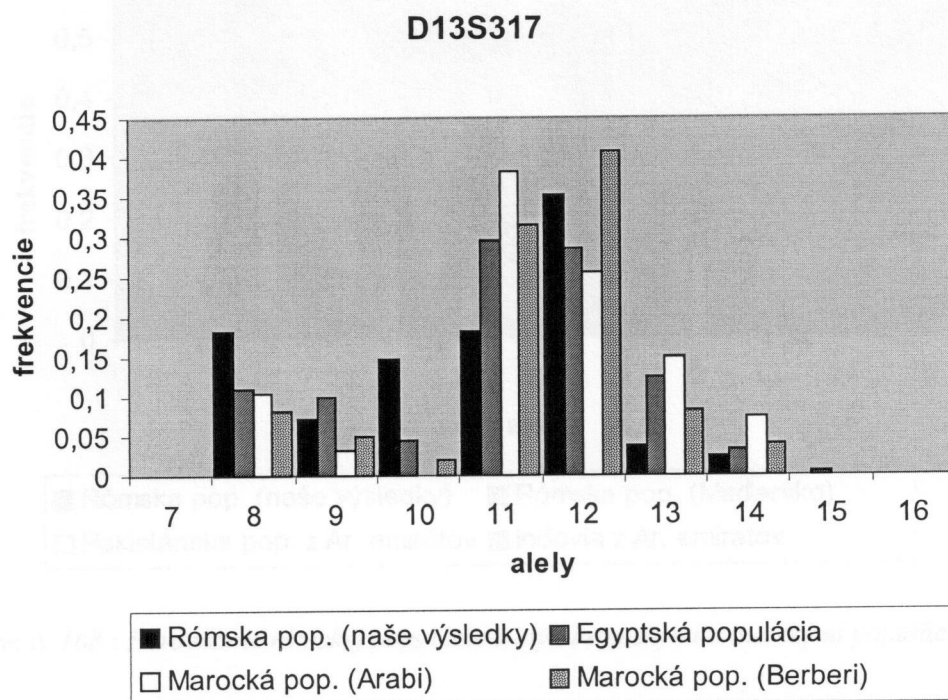
V prípade porovnávaných populácií zo severnej Afriky – u Egyptanov z Káhiry (Klintschar a kol., 1999) a Arabov a Berberov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000) – boli zistené rozdiely vo frekvenciách v prípade alel 10, 11 a 13, podobne ako u európskych populáciách (Obr. č. 167.).

Lokus D7S820

D13S317



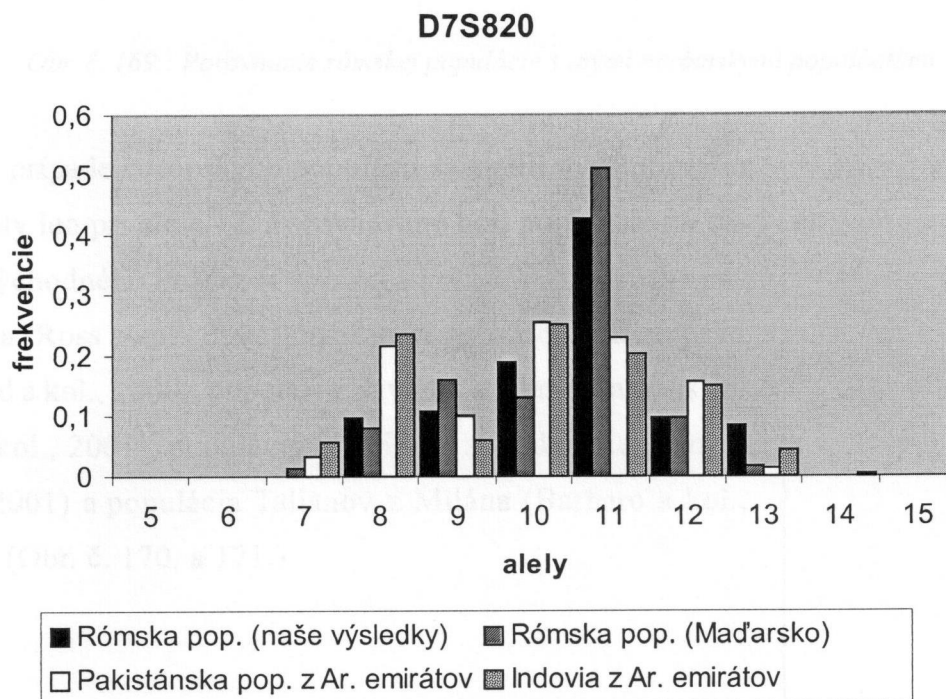
Obr. č. 166.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



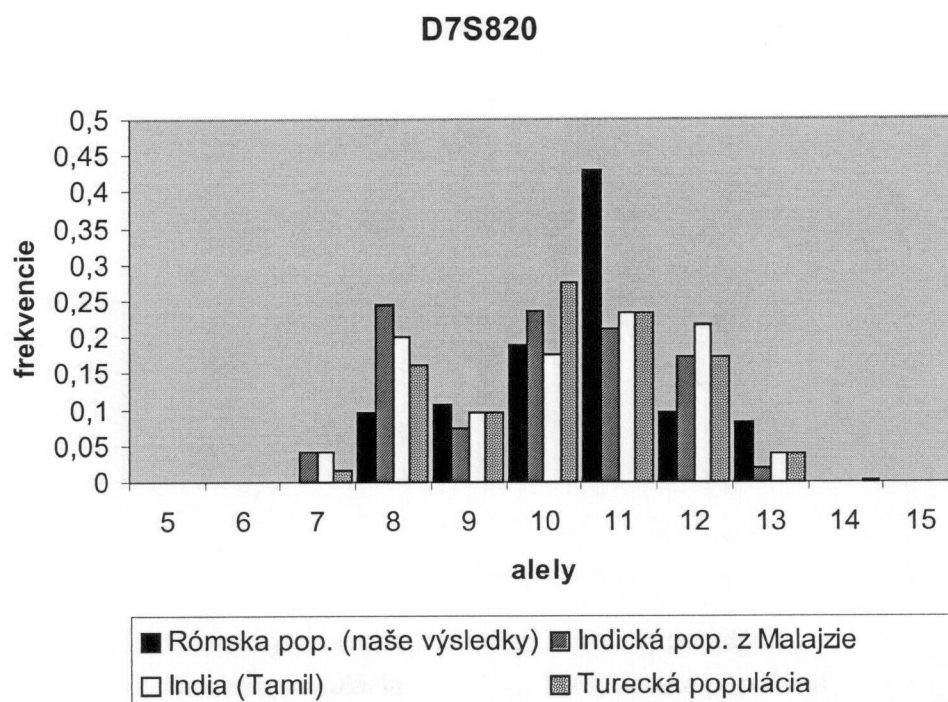
Obr. č. 167.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

LOKUS D7S820

Porovnaním rómskej populácie zo Slovenska s rómskou populáciou z Maďarska (Egyed a kol., 2000) sa zistila značná podobnosť (Obr. č. 168.). Od indických populácií sa však Rómovia odlišujú hlavne v alelách 8, 11 a 12. Sledovali sa populácie Indov a Pakistancov žijúcich v Spojených arabských emirátoch (Mohammed a kol., 2001), Indov žijúcich v Malajzii (Lim a kol., 2001), a Tamilov z južnej Indie (Panneerchelvam a kol., 2001) (Obr. č. 168. a 169.). Obr. č. 169. porovnáva aj tureckú populáciu zo strednej Anatólie (Çakir a kol., 2001), kde sa zistili podobné rozdiely, ako pri indických populáciách.

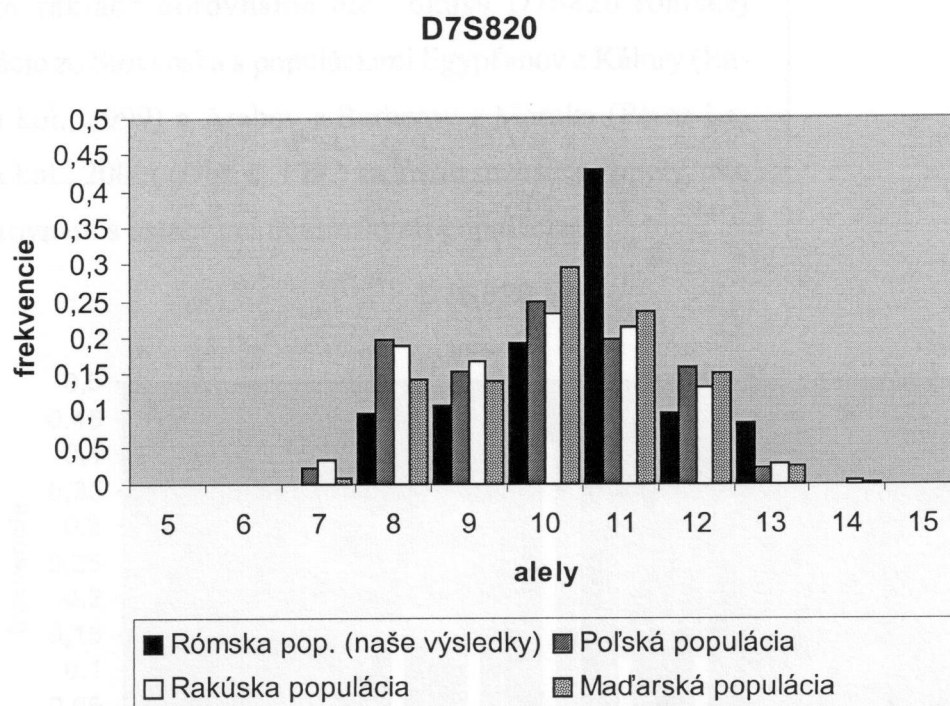


Obr. č. 168.: Porovnanie rómskej populácie s inými rómskymi a indickými populáciami

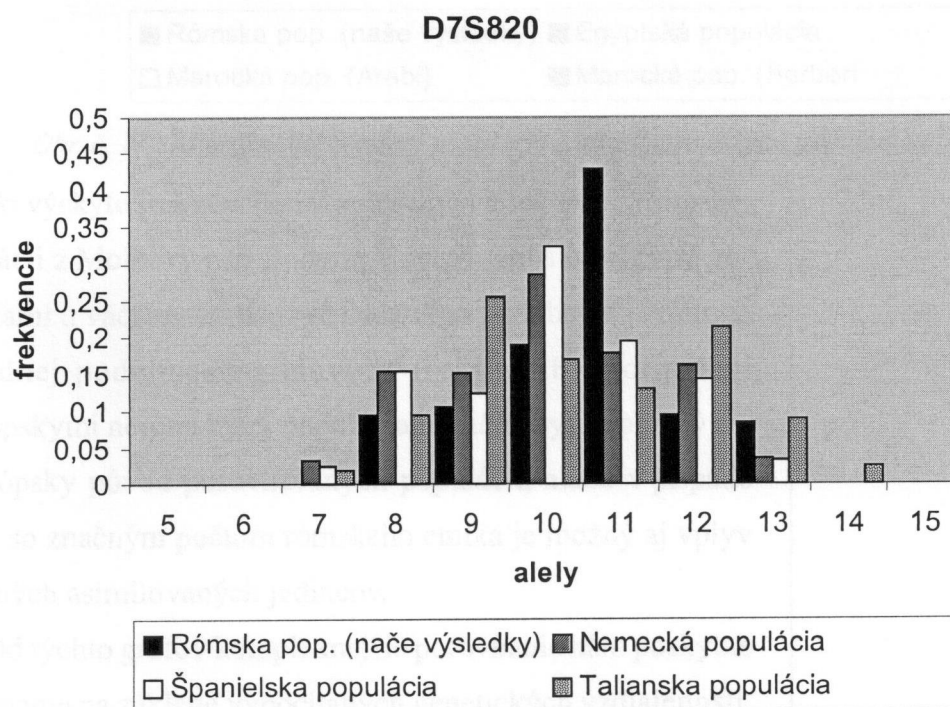


Obr. č. 169.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

V prípade európskych populácií sa zistili významnejšie rozdiely len pri alele 12. Porovnávané boli populácie zo severovýchodného Poľska (Pepinski a kol., 2001), rakúska populácia (Ross a kol., 2001), maďarská populácia z Budapešti (Egyed a kol., 2000), populácia Bavorov z Nemecka (Anslinger a kol., 2001), populácia Španielov z Andalúzie (Sanz a kol., 2001) a populácia Talianov z Milána (Barbaro a kol., 2000) (Obr. č. 170. a 171.).



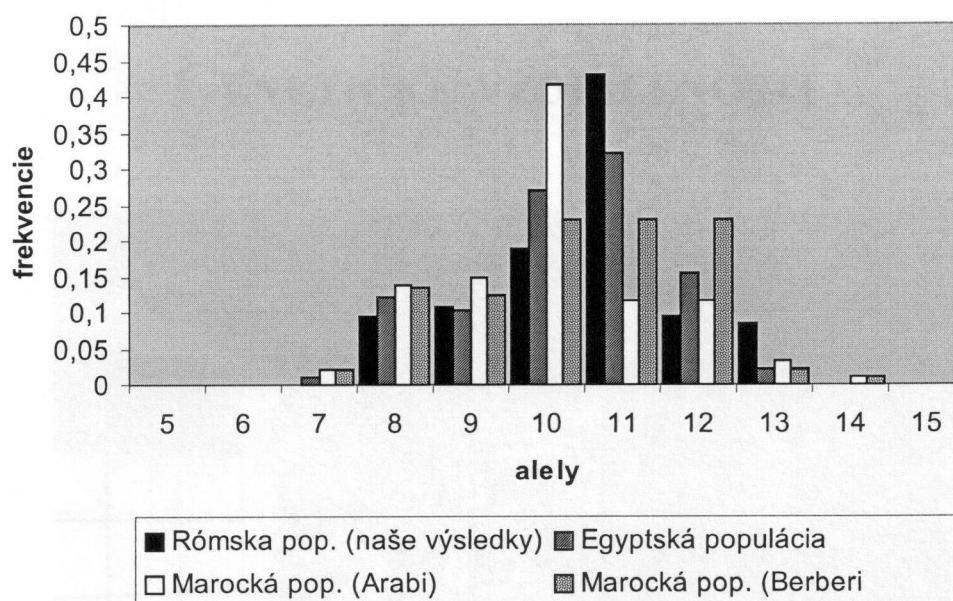
Obr. č. 170.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami



Obr. č. 171.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Na základe porovnania alel lokusu D7S820 rómskej populácie zo Slovenska s populáciami Egypt'anov z Káhiry (Entala a kol., 1999) a Arabov a Berberov z Maroka (Pérez-Lezaun a kol., 2000) (Obr. č. 172.) sa zistili menšie rozdiely, ako pri porovnaní s ostatnými nerómskymi populáciami.

D7S820

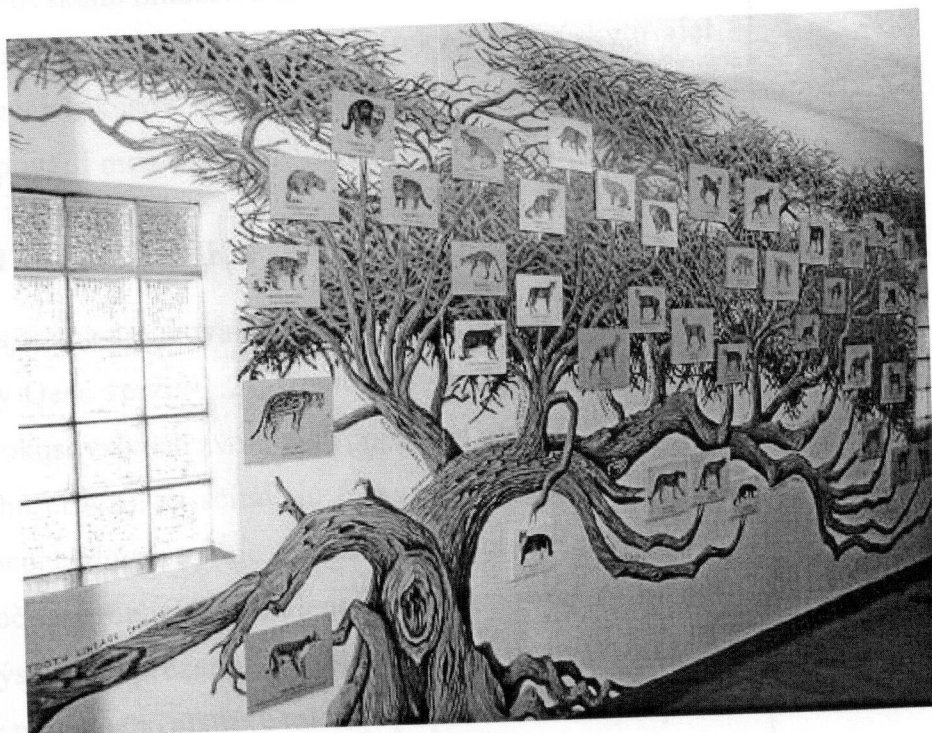


Obr. č. 172.: Porovnanie rómskej populácie s inými nerómskymi populáciami

Vo výskyte frekvencií alel jednotlivých lokusov v rómskej populácii z Moldavy nad Bodvou v porovnaní s indickými populáciami u väčšiny lokusov je badateľná podobnosť. Príčinou prípadnej podobnosti alelových frekvencií v porovnaní s európskymi nerómskymi populáciami môže byť spoločný indoeurópsky pôvod porovnávaných populácií, alebo v prípade krajín so značným počtom rómskeho etnika je možný aj vplyv početných asimilovaných jedincov.

Od týchto grafov komplexnejšie porovnanie nám poskytne porovnanie na základe vypočítaných genetických vzdialeností, ktorou sa zaoberá nasledujúca kapitola: Genetické vzdialenosti.

GENETICKÉ VZDIALENOSTI



Fylogenetický strom

GENETICKÉ VZDIALENOSTI

Metóda genetických vzdialeností je určená na vyjadrenie príbuznosti jednotlivých populácií. Táto metóda má už dlhoročnú tradíciu, počiatky jej použitia siahajú až do druhej polovice minulého storočia. K prvým významným vedcom, ktorí študovali genetické vzdialenosti jednotlivých populácií patrili Masatoshi Nei a Cavalli-Sforza.

Rozvoj informatiky v minulom storočí umožnil spracúvanie obrovského množstva dát - matrixov - charakterizujúcich ľudské populácie na základe frekvencie výskytu alel jednotlivých lokusov. Na spracovanie vybraných 16 populácií sme použili metodiku M. Neiho.

POUŽITÁ TECHNIKA

Údaje sme spracovali pomocou programu Genetic Distance by Qesc verzia 1.21. Tento program porovnáva frekvencie lokusov dvoch zvolených populácií na základe vzťahu M. Neiho (1972). sa sčítavajú frekvencie lokusov vsadené do exponenciálnych rovníc. Zo zistenej genetickej podobnosti sa vypočíta genetická vzdialenosť. Program okrem konečných výsledkov prezentuje aj čiastkové výsledky, a bez zásahu do pôvodného matrixu toleruje prípadné rozdiely v počte sledovaných lokusov porovnávaných populácií s tým, že v takom prípade genetická vzdialenosť sa vypočíta porovnaním menšieho počtu lokusov. O tom, koľko porovnaných lokusov je potrebných na zaradenie populácie do systému sledovaných dát, rozhoduje používateľ.

Počiatky štúdia
genetických
vzdialeností

Program Genetic
Distance by Qesc

Program testuje aj súčet frekvencií, čo je výhodné pre elimináciu preklepov pri zadávaní údajov, a prípadné skreslenie výsledkov vznikajúce z takýchto chýb.

Výsledky z porovnania populácií boli spracované pomocou programu Microsoft Office Excel 2000, a stromová štruktúra sledovaných populácií bola kreslená pomocou programu Corel Draw 10.

Metóda genetických vzdialeností sa zakladá na sledovaní podobnosti jednotlivých populácií navzájom. Zistená podobnosť, alebo rozdielnosť sa vyjadruje desatinným číslom, pričom interval možných hodnôt je medzi 0 až 1.

Metóda genetických vzdialeností je citlivá na počet sledovaných lokusov, preto presnosť výsledkov len v malej miere ovplyvňuje počet jedincov v sledovaných populáciách. (Major, 1999)

Na porovnanie sme vybrali 16 populácií, o ktorých predpokladáme, že počnúc od čias odchodu Rómov z Indie niekedy existovala medzi nimi určitá väzba. Tiež sme tam zaradili populačno-genetické štúdie z Indie, a to populácie pochádzajúce zo severovýchodných a severných častí Indie, a populácie zo stredných a južných oblastí Indie.

Ostatné oblasti Zeme boli rozdelené do kategórií podľa toho, či tamojšie domorodé obyvateľstvo prišlo do styku s Rómami. Podľa toho sme zvolili štáty, cez ktoré prešli počas svojej púte do Európy: Turecko, Grécko, Egypt, Maroko; ďalej Slovensko a okolité štáty (Poľsko, Čechy, Rakúsko a Maďarsko) a ostatné štáty Európy, v ktorých žili resp. dodnes žijú Rómovia, ako je Španielsko, Nemecko a Taliansko. Výsledky slovenských Rómov sme porovnávali aj s údajmi Rómov žijúcich v južnej oblasti Maďarska, v župe Baranya.

**Kreslenie
stromovej
štruktúry**

**Podmienky
výberu populácií
na porovnanie**

Pri výbere publikácií sme dbali na to, aby v štúdiách, s ktorými porovnávame našich Rómov, bola použitá rovnaká, alebo podobná metodika, a aby sledované súbory sa podobali ako počtom tak aj charakterom výberu jedincov. V niektorých prípadoch (hlavne čo sa týka Európskych štátov okrem Slovenska) sme mali k dispozícii veľký počet štúdií, často od jedného autora, čo zaručuje jednotnosť výberu a jednotnú metodiku. Ale v ostatných prípadoch alebo neboli ešte publikované všetky potrebné lokusy pre porovnanie, alebo boli sledované rôzne populácie rôznymi autormi. V niektorých prípadoch museli byť použité aj takéto publikácie.

V prípade rómskej populácie z Maďarska sme vychádzali z publikovaných výsledkov Egyeda a kol. (2000) pri lokusoch D3S1358, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820; lokusy D1S80 a VWA publikovali Woller a kol. (1998) a Füredi a kol. (1997).

VNTR lokusy u slovenskej populácie sledovali Kádasi a kol. (1994), a STR lokus VWA Hou a kol. (1998).

Hodnoty lokusov D3S1358, WVA, FGA, D8S1179, D21S11 a D18S51 v českej populácii sledovali Vanek a kol. (2001), a VNTR lokus Col2A1 Řihošková (2001).

Z poľskej populácie hodnoty lokusu D1S80 a VWA publikovali Turowska a kol. (1995 a 2000), lokus D17S5 Neuhuber a kol. (1998), D3S1358, D5S818, D13S317 a D7S820 Pepinski a kol. (2001), FGA Scheil a kol. (2001) a D8S1179, D21S11, D18S51 Pawlowski a kol. (2000).

Na porovnanie s rakúskou populáciou sme použili výsledky Ludwiga a kol. (1989) pre lokus ApoB, Klintschara a kol. (1995, 1999 a 1998) pre lokus D1S80, D3S1358 a WVA, Neuhuber a kol. (1998) publikovali frekvencie lo-

**Rómska populácia
z Maďarska**

**Slovenská
populácia**

Poľská populácia

**Rakúska
populácia**

[illegible]

kusu D17S5, Dauber a kol. (1998) lokus FGA Steinlechner a kol. (2001) lokus D8S1179 a D18S51, Schwartz a kol. (1996) lokus D21S11, a Ross a kol. (2001) sledovali lokusy D5S818, D13S317 a D7S820.

Maďarskú populáciu charakterizovali lokusmi D1S80 Woller a kol. (1998), D17S5 Lászik a kol. (1999), lokusy D3S1358, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820 Egyeda a kol. (2000) a lokus WVA Szabo a kol. (1998).

Z publikácií charakterizujúcich nemeckú populáciu sme použili štúdie Pörtl a kol. (1996) pre lokus ApoB, Rand a kol. (1991) pre lokus D1S80, Scheil a kol. (2001) pre lokus D17S5, Hou a kol. (1994) pre lokus Col2A1, a Anslinger a kol. (2001) pre STR lokusy D3S1358, WVA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820.

VNTR polymorfizmy vyskytujúce sa v španielskej populácii sledovali Gané a kol. (1995) lokus ApoB; D1S80 lokus sledoval Flores a kol. (2001), D17S5 Lorente a kol. (1997), Col2A1 Pestoni a kol. (1996). Všetky STR polymorfizmy (D3S1358, WVA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 a D7S820) sme porovnávali s výsledkami Sanz a kol. (2001).

Frekvencie výskytu jednotlivých alel lokusov ApoB, D1S80 a Col2A1 v talianskej populácii publikovali Maviglia a kol. (2001), lokus D17S5 Ricci a kol. (1998), lokus VWA Tagliabracci a kol. (1998), a ostatné STR lokusy (D3S1358, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820) Barbaro a kol. (2000).

VNTR polymorfizmy D1S80, D17S5 a Col2A1 v gréckej populácii sledovali Katsuyama a kol. (1998), STR polymor-

**Maďarská
populácia**

**Nemecká
populácia**

**Španielska
populácia**

**Talianska
populácia**

**Grécka
populácia**

Obr. č. 174.: Tabuľka genetických vzdialeností 5 rómskych populácií z Európy

	Rómska populácia (naše výsledky, Moldava n/B)	Rómska populácia (Maďarsko, Baranya)	Rómska populácia (Jarovnice, Richnava)	Rómska populácia (Spiš)	Rómska populácia (naše výsledky, Medzev, Jasov)	Populácie
distance		0,9163	0,9211	0,9518	0,9633	Rómska populácia (naše výsledky, Moldava n/B)
	0,0874		0,9343	0,9727	0,8549	Rómska populácia (Maďarsko, Baranya)
	0,0822	0,068		0,9204	0,9312	Rómska populácia (Jarovnice, Richnava)
	0,0494	0,0277	0,0829		0,9312	Rómska populácia (Spiš)
	0,0374	0,1568	0,0713	0,0712		Rómska populácia (naše výsledky, Medzev, Jasov)

fizmus D3S1358 Kondopoulou a kol. (1999), WVA Balding (1997), FGA a D21S11 Huckenbeck a kol. (2001).

Tureckú populáciu sledovali Sepulchre a kol. (1995) lokus D1S80, Akbasak a kol. (2001) lokus D3S1358, Iwasa a kol. (1997) lokus VWA, Rolf a kol. (1998) lokus FGA, a Decorte a kol. (2000) lokus D21S11.

Egyptskú populáciu charakterizovali lokusmi D3S1358 Ahmed a kol. (2001), lokusmi WVA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818 a D13S317 Klintschar a kol. (1999), a lokusom D7S820 Entrala a kol. (1999).

Výskyt STR lokusov (D3S1358, WVA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 a D7S820) u Berberov z Maroka sledovali Pérez-Lezaun a kol. (2000).

Štúdie indických populácií sme rozdelili do dvoch skupín. V populáciách pochádzajúcich zo severovýchodných a severných častí Indie Deka a kol. (1992) sledovali lokusy

**Turecká
populácia**

**Egyptská
populácia**

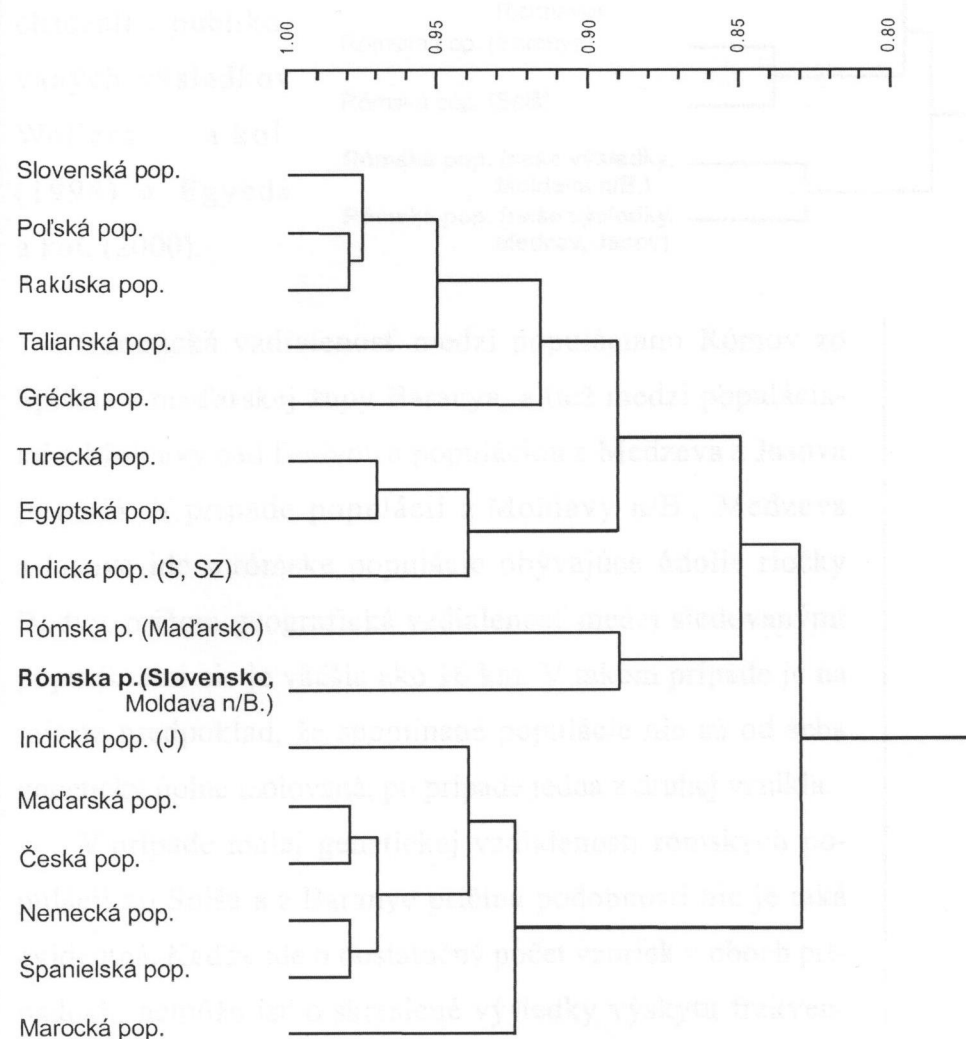
Berberi z Maroka

**Indická
populácia**

ApoB, D1S80 a D17S5, Foreman a kol. (2001) lokus D3S1358, Dutta a kol. (2000) lokus VWA, Evett a kol. (1997) lokusy FGA a D8S1179, Mohammed a kol. (2001) lokusy D5S818, D13S317 a D7S820.

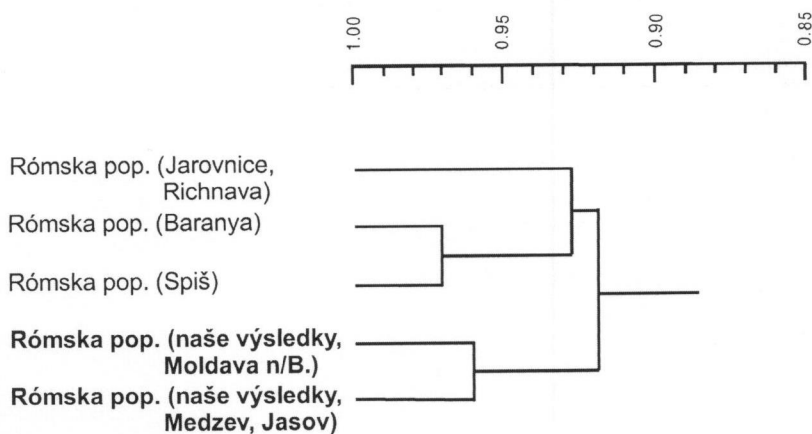
Indické populácie zo stredných a južných oblastí študovali Choong a kol. (1999) lokus ApoB., Chuah a kol. (1994) lokus D1S80, Mastana a kol. (2000) lokus D17S5, Lim a kol. (2001) lokusy D3S1358, WVA, FGA, D5S818, D13S317 a D7S820 Frégeau a kol. (1998) lokus D21S11.

Obr. č. 175.: Genetické vzdialenosti 16 populácií zo sveta



Na porovnanie predkladám aj genetické vzdialenosti rómskych populácií navzájom, a to porovnanie nami sledovanej rómskej populácie z Moldavy nad Bodvou a populáciu Rómov z Medzeva a Jasova so slovenskými rómskymi skupinami z Jarovnice a Richnavy (Bernasovská a kol., 2000), a z oblasti Spiš (Bernasovská a kol. 1998a); a s rómskou populáciou z Maďarska zo župy Baranya. V prípade Rómskej populácie z Maďarska sme vychádzali z publikovaných výsledkov Wollera a kol. (1998) a Egyeda a kol. (2000).

Obr. č. 176: Genetické vzdialenosti 5 rómskych populácií z Európy



**Rómska
populácia**

**Genetické
vzdialenosti
rómskych
populácií**

Genetická vzdialenosť medzi populáciami Rómov zo Spiša a z maďarskej župy Baranya, a tiež medzi populáciami z Moldavy nad Bodvou a populáciou z Medzeva a Jasova je malá. V prípade populácií z Moldavy n/B., Medzeva a Jasova ide o rómske populácie obývajúce údolie riečky Bodvy, pričom geografická vzdialenosť medzi sledovanými populáciami nie je väčšia ako 16 km. V takom prípade je na mieste predpoklad, že spomínané populácie nie sú od seba geneticky úplne izolované, po prípade jedna z druhej vznikla.

V prípade malej genetickej vzdialenosti rómskych populácií zo Spiša a z Baranye príčina podobnosti nie je taká evidentná. Keďže ide o dostatočný počet vzoriek v oboch prípadoch, nemôže ísť o skreslené výsledky výskytu frekven-

cií. Príčinu sledovaného javu je potrebné hľadať v možnosti oddelenia časti populácie v Baranya a ich neskoršieho usadenia na území historickej župy Spiš. Tento predpoklad však ešte je potrebné potvrdiť aj výskumom v archívoch.

ZÁVER

V štúdii predkladám frekvencie alel 4 VNTR (ApoB, D1S80, D17S5 a Col2A1) a 9 STR (D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 a D7S820) lokusov vyskytujúcich sa v populáciách Rómov z Moldavy nad Bodvou a Rómov z Medzeva a Jasova.

Výrazné rozdiely zistené porovnaním rómskej populácie s ostatnými európskymi populáciami potvrdzujú, že Rómovia majú mimoeurópsky pôvod.

V tejto štúdii sa porovnávali populácie európskych štátov, v ktorých je rómska populácia početnejšia (nad 100 000 jedincov) s nami zistenými frekvenciami výskytu alel jednotlivých lokusov. Stáročné spolužitie, ktoré častokrát sprevádzala násilná alebo samovoľná asimilácia však poznačila nielen rómsku populáciu, ale aj európske populácie žijúce s početným rómskym obyvateľstvom na jednom geografickom území.

Porovnaním rómskej populácie so severoafrickými populáciami, z čoho za najdôležitejšie pokladám porovnanie s egyptskou populáciou, sa potvrdilo, že je výrazná genetická vzdialenosť medzi rómskou populáciou a ostatnými severoafrickými populáciami, čo vyvracia dávno známou a rozšírenú hypotézu o egyptskom pôvode Rómov. Výskyt neveľkého počtu Rómov v severoafrických štátoch však bol a je potvrdený – ich príchod do Španielska z juhu inak by ani nebol možný.

Porovnaním rómskej populácie s dostupnými údajmi niektorých indických populácií sa zistila väčšia podobnosť, ako s ostatnými sledovanými európskymi a severoafrickými populáciami. Vypočítaním genetických vzdialeností 16 európskych, severoafrických a indických populácií sa však zistila menšia genetická vzdialenosť medzi niektorými európskymi populáciami a indickými populáciami, ako medzi sledovanou rómskou populáciou a indickými populáciami. Tento jav mohol zapríčiniť aj spoločný indoeurópsky pôvod spomínaných populácií.

Počas dlhodobého odlúčenia rómskej populácie od prapôvodnej populácie musíme počítať aj s vplyvom genetického posunu (drift) a efektom zakladateľa, keďže ide o početne malé populácie čo sa týka Rómov, ale aj indických populácií. Tieto genetické javy môžu od seba oddialiť príbuzné populácie, prípadne priblížiť vzdialené populácie.

Výsledky skresľuje aj obmedzené množstvo publikovaných údajov indických populácií. Dlhodobu prevládajúci kastovný systém zvýšila rôznorodosť populácií obývajúcich Indiu do takej miery, že na dokázanie indického pôvodu Rómov je potrebné nájsť presne tú kastu, alebo kasty z ktorých pochádzajú. V prípade absencie týchto údajov je možné potvrdiť iba značnú podobnosť Rómov s indickou populáciou, ako sa to potvrdilo aj v našom prípade.

Náš výskum ďalej potvrdil porovnaním piatich rómskych populácií z malého geografického územia (malé vzhľadom k širokému rozšíreniu Rómov) západnej a severnej oblasti Karpatskej kotliny, že pôvod Rómov je potrebné hľadať vo viacerých indických kastách, lebo medzi porovnávanými rómskymi populáciami sa zistili značné genetické vzdialenosti.

Prínosom tejto štúdie sú okrem zistených genetických vzdialeností aj zatiaľ neskúmané frekvencie výskytu alel 4 VNTR a 9 STR lokusov vyskytujúcich sa u slovenských Rómov.

LITERATÚRA

- Ács Z. (1996): Nemzetiségek a történelmi Magyarországon. Kossuth könyvkiadó Budapest.
- Acton, T. (1974): Gypsy Politics and Social Change. London
- Ahmed, A., Linacre, A.M.T., Mohammed, A.A.A., Vanezis, P., Goodwin, W. (2001) STR population data for 10 STR loci including the GenePrint™ PowerPlex™ 1.2 kit from El-Minia (Central Egypt). *Forensic Sci. Int.* 117: 233-234
- Akbasak, B.S., Budowle, B., Reeder, D.J., Redmann, J., Kline, M.C. (2001) Turkish population data with the CODIS multiplex short tandem repeat loci. *Forensic Sci. Int.* 123: 227-229
- Alavantič, D., Glišič, S., Erceg, S., Stupar, M. (1997): Genetic Variation at the apoB 3' Hypervariable Region in a Serbian Population. *Eur. J. Hum. Genet.*, 5:333-335.
- American Association of Anthropology (1996): *American Journal of Physical Anthropology*, 101, str. 569-570
- Anslinger, K., Rolf, B., Keil, W. (2001): Evaluation and application of the AMPF/STR Profiler Plus PCR amplification kit in Bavarian population sample. *Int. J. Leg. Med.*, 114:278-280.
- Arnheim, N., Erlich, H. (1992): Polymerase Chain Reaktion Strategy. *Annu. Rev. Biochem.*, 61:131-56
- Aracura, A., Liu, C., Ota, M., Fukushima, H. (1998): Subtyping and characterization of D1S80 alleles in a Japanese population using PCR-RFLP. *Int. J. Leg. Med.* 111(4):183-187.
- Arany, J. (1960): A nagyidai cigányok, Budapest
- Arroyo, E., García-Sánchez, F., Prieto, L., Ruiz de la Cuesta, J. M., Vicario, J. L. (1996): Polymorphism analysis of the VNTR locus D17S5 in Central Spain. *Int J Legal Med* 109:98-99
- Báčová V. (1992): Vzťahy obyvateľov Slovenska k Rómom. Národopisný ústav SAV. Bratislava
- Baktay, E. (1981) In Stefány, J. (1997): Ázsiai kultúrák. Társadalomismeret. AKG Kiadó Budapest
- Balamurugan, K., Abdel-Rehman, H., Duncan, G.T., Budowle, B., Anderson, S., Macechko, J., Tahir, M. (1998) Distribution of D1S80 alleles in the Jordanian population. *Int. J. Legal Med.* 111: 276-277
- Balding, D.J. (1997) personal communication
- Balmaseda, A., Sandoval, E., Perez, L., Gutierrez, C. M., Harris, E. (1999): Application of molecular typing techniques in the 1998 Dengue epidemic in Nicaragua. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61(6):893-7
- Barbaro, A., Cormaci, P., Falcone, G., Barbaro, A. (2000) Population genetic study of 9 STR loci using AmpF/STR ProfilerPlus kit and capillary electrophoresis: Distribution of allelic frequencies in 20 Italian towns: Agrigento, Caltanissetta, Catania, Palermo, Ragusa, Siracusa, Messina, Reggio Calabria, Catanzaro, Cosenza, Bari, Napoli, Roma, Firenze, Venezia, Parma, Bologna, Milano, Torino, Genova. *Progr. Forensic Genet.* 8: 184-189
- Barni, N., Talmud, P. J., Carlsson, P., Azoulay, M., Darnfors, C., Harding, D., Weil, D., Grzeschik, K. H., Bjursell, G., Junien, C., Williamson, R., Humpries, S.E., (1986): The isolation of genomic recombinants for the human apolipoprotein B gene and the mapping of three common DNA polymorphisms of the gene - a useful marker for human chromosome 2. *Hum.Genet.*, 73 : 313-319.
- Barro, M., Vasquez, M., Spencer, E. (1999): Uso de una reaccion de polimerasa en cadena simple combinada con un ensayo de movilidad de heteroduplexes en la caracterizacion de la region 5' no codificante del virus de la hepatitis (Use of a simple polymerase chain reaction combined with a heteroduplex mobility assay to characterize the non coding 5' region of hepatitis C virus). *Rev. Med. Chil.* 127(7):783-90
- Batarian, J. R., Ledbetter, S. A., Wolff, R. K., Nakamura, Y., White, R., Dobyns, W. B., Ledbetter D. H. (1990): Rapid diagnosis of Miller-Dieke syndrome and isolated lissencephaly sequence by the polymerase chain reaction. *Hum. Genet.* 85(5):555-9.
- Benecke, M. (1997): DNA typing in forensic medicine and in criminal investigations: a current survey. *Naturwissenschaften* 84(5):181-8
- Beneš, J. (1965a): Tělesné znaky slovenských Cikánů. *Spravodaj čs.spol.antropol.*, 17 : 7-10.
- Beneš, J. (1965b): Palmardermatoglyphik der slowakischen Zigeuner (Tschechoslowakei). *Anthropologie*, 3:27-35.
- Beneš, J. (1968b): Zum physischen Charakter einer erwachsenen Zigeuner population (240 Männer) in der Slowakei (Tschechoslowakei). *Anthropologie*, 6:3-93.
- Beneš, J. (1970b): Beitrag zur Dermatoglyphik der Zigeuner aus Mähren (Tschechoslowakei). *Anthropologie*, 8:61-67.
- Beneš, J. (1974): The blood groups of the Slovak and Hungarian Gypsies. *Scripta Fac. Sci. Nat. UJEP Brunensis, Biologia*, 4:75-82.

- Bernasovská, J., Bernasovský, I., Barlová, E., Chlebovská, K., Biroš, E. (1998a): Serogenetic Study of Romanies (Gypsies) from Region Spiš in Slovakia. Distribution of Blood and Serum Groups, Red Cell Isoenzymes, HLA Antigens of First Class and Apolipoprotein B Gene Polymorphism. *J. Hum. Ecol.*, 9 (2): 113-121.
- Bernasovská, J., Bernasovský, I., Marcinková, J., Chlebovská, K. (1998b): Polymorfizmy Apo B génu u Rómov z východného Slovenska. *Bull. Slov. antropol. Spoloč.* 1:11-15.
- Bernasovská, J., Feráková, E., Bernasovský, I. (1999): Romany Population Data on Two Loci (D1S80, ApoB) from East Slovakia. *J.Hum.Ecol.* Vol. 10:341-347
- Bernasovská, J., Bernasovský, I. (in press, 1999b): Analysis of the D1S80 and ApoB allele frequencies in Romanies (Gypsies). *Anthropol.Sci.*
- Bernasovská, J., Bernasovský, I. (2000): Analysis of the D1S80 and ApoB allele frequencies in Slovak Romanies. *Anthropol.Sci.* 108(1):21-26
- Bernasovská, K., Bernasovský, I., Poradovský, K., Frič, A. (1975): Váhy a dĺžky donosených cigánskych novorodencov vo Východoslovenskom kraji. *Čs. gynek.*, 40:595-598.
- Bernasovská, J., Bernasovský, I., Pačin, J. (1998): Anthropometric Studies of Romany (Gypsy) Newborns in East Slovakia Delivered Within 1991-1992. *J.Hum.Ecol.*, 9(2):131-135.
- Bernasovský, I., Petrášová, D., Cesnak, D., Bernasovská, K. (1981b): Sledovanie niektorých biologických parametrov u cigánskych detí. *Čs. hyg.* 26, 263-268.
- Bernasovský, I., Bernasovská, J. (1996): Somatický vývin rómskych detí školského veku. Metodické centrum Prešov.
- Bernasovský, I., Juričková, J., Ferák, V. (1994): Population genetic study in Gypsies (Roms) from Slovakia: Distribution of blood group genetic markers. *Anthropol.Sci.*, 102 (4), Tokyo: 409-419.
- Bernasovský, I., (1994): Seroanthropology of Roms (Gypsies). Moravian Museum Brno.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K. (1985a): Study of East Slovakian Gypsy (Rom) children body development. I. Basic anthropometrical characteristics. *Zborník Lek. fak. UPJŠ Košice*, 43:219-232.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K. (1985b): Study of East Slovakian Gypsy (Rom) children body development. II. Head and body dimension indices of Gypsy and non-Gypsy children. *Zborník Lek. fak. UPJŠ Košice*, 43:233-244.
- Bernasovský, I., Bernasovská, J. (1996): Somatický vývin rómskych detí školského veku. Metodické centrum Prešov.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Poradovský, K., Vargová, T. (1976a): Váhové normy cigánskych novorodencov od 37. týždňa gravidity vyššie a návrh nového limitu nízkej pôrodnej váhy pre cigánsku populáciu. *Čs. Gynekol.*, 41:660-664.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Vargová, T., Poradovský, K. (1979): Body characteristics of new-born Roms (Gypsies) from Czechoslovakia. *Homo*, 3:151-153.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Hhudáková, T. (1981): Some Body Characteristics of Roms (Gypsies) Newborns and their Mothers. *Anthropologie*, 19:263-268.
- Bernasovský, I., Hhudáková, T., Bernasovská, K., Groch, J. (1982): The study of some biological parameters of the Rom (Gypsy) girls (The gonadotropin hormone levels). *Proceedings of the II. nd Anthropological congress of Aleš Hrdlička, Universitas Carolina, Pragensis* 353-356.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Maheľová, O. (1986): Skeletal age in Gypsy school children from the East Slovakian region. *Anthropologie*, 14:119-123.
- Bernasovský, I., Biroš, I., Stollárová, N., Juričková, J. (1992): Kostný vek predškolských detí z východného Slovenska. *Čs. Pediat.*, 47:391-394.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., (1985a): Study of East Slovakian Gypsy (Rom) children body development. I. Basic anthropometrical characteristics. *Zborník Lek.fak.UPJŠ Košice*, 43:219-232.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., (1985b): Study of East Slovakian Gypsy (Rom) children body development. II. Head and body dimension indices of Gypsy and non-Gypsy children. *Zborník Lek. fak. UPJŠ Košice*, 43:233-244.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Poradovský, K., Vargová, T., (1976a): Váhové normy cigánskych novorodencov od 37. týždňa gravidity vyššie a návrh nového limitu nízkej pôrodnej váhy pre cigánsku populáciu. *Čs. Gynek.*, 41:660-664.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Vargová, T. (1976b): Výskyt krvných skupín systémov A1A 2B0, Rh, MN, P, Duffy, Kell a Kidd vo východoslovenskej populácii. Abstrakt „Ognopolski zjazd antropologow“, Krakow, 5.

- Bernasovský, I., Marcineková, A., Vargová, T., Bernasovská, K., Hanzelová, V., Baláž, J., (1976c): Seroanthropological Study of Gypsy Children from Podskalka in East Slovakia. II. Frequency of Lewis, P, Lutheran, Duffy, Kell and Kidd systems. *Human Growth and Physical Development. Acta Fac. Med. UJEP Brunensis*, 57, 122:293-300.
- Bernasovský, I., Bernasovská, K., Vargová, T., Poradovský, K., (1979): Body characteristics of new-born Roms (Gypsies) from Czechoslovakia. *Homo*, 3:151-153.
- Bernasovský, I., Juričková, J., Ferák, V., (1994a): Population genetic study in Gypsies (Roms) from Slovakia : Distribution of blood group genetic markers. *Anthropol. Sci.*, 8:409-419.
- Bernasovský, I., Halko, N., Biroš, I., Siváková, D., Juričková, J., (1994b): Some genetic markers in Valachian (Olachian) Gypsies in Slovakia. *Gene Geography*, 8:99-107.
- Bernasovská, J., Bernasovský, I., Barlová, E., Chlebovská, K., Biroš, I. (1998): Serogenetic Study of Romanies (Gypsies) from Region Spiš in Slovakia. Distribution of blood and serum groups, red cell isoenzymes, HLA antigens of first class and apolipoprotein B gene polymorphism. *J. Hum. Ecol.*, 9(2): 113-121.
- Bernasovský, I., Bernasovská, J. (1999): Anthropology of Romanies (Gypsies). Auxological and anthropological study, Brno.
- Biesecker, L.: Glossary of genetic terms. <http://www.nhgri.nih.gov/DIR/VIP/Glossary/>
- Biroš, I., Bernasovský, I., Stollárová, N., Bernasovská, K., Juričková, J. (1991): Porovnanie telesného rastu školských detí z detských domovov a rodín so zameraním na rómske etnikum. *Čs. Pediat.*, 46:270-274.
- Biroš, I., Bernasovský, I., Stollárová, N., Juričková, J. (1992): Analýza vplyvu dvoch kritérií tvorby vekových skupín na rozptyly hodnôt vybraných somatických parametrov. *Čs. Pediat.*, 47:600-604.
- Biroš, I., Bernasovský, I., Stollárová, N., Juričková, J. (1995): Sledovanie niektorých biologických parametrov u rómskych detí z okresu Spišská Nová Ves. *Folia Fac. med. Univ. Šafarikianae Casoviensis*, 52:433-439.
- Blaber, M. (1998): *Molecular Biology and Biotechnology*. San Francisco
- Block, M. In Škvára, J. (1997): Původ a historie Romů. *Nedotknuteční. Koktejl*, 12: 34-37.
- Block, M. (1936). *Zigenner, ihr leben und ihre Seele*. Leipzig.
- Bodmer, W. F. a Cavalli-Sforza, L. L. (1976): *Genetic, Evolution, and Man*, San Francisco.
- Boerwinkle, E., Xiong, W., Fourest, E., et al., 1989: Rapid typing of tandemly repeated hypervariable loci by the polymerase chain reaction: Application to the apolipoprotein B 3' hypervariable region. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 86:212-216.
- Boerwinkle, E., Chan, L. (1989a): A three codon insertion/deletion polymorphism in the signal peptide region of the human apolipoprotein B (ApoB) gene directly typed by the polymerase chain reaction. *Nucl. Acids Res.*, 17:4003.
- Boerwinkle, E., Xiong, W., Fourest, E., a kol. (1989b): Rapid typing of tandemly repeated hypervariable loci by the polymerase chain reaction: Application to the apolipoprotein B 3' hypervariable region. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 86:212-216.
- Boerwinkle, E., Hanis, C. L., Chan, L., (1990): A unique length polymorphism in the signal peptide region of the apolipoprotein B gene in Mexican-Americans. *Nucl. Acids Res.*, 18:7193.
- Boisselier, J. (1997): *Buddha. Cesta prebudenia*, Bratislava
- Bosch, E., Clarimón, J., Pérez-Lezaun, A., Calafell, F. (2001) STR data for 21 loci in northwestern Africa. *Forensic Sci. Int.* 116: 41-51
- Brdička, R. (1995): Lidský genom – Chomozom č. 17. *Čas. Lék. Čes.*, 134(17): 555-557.
- Brenner, C.H. (2000) Summary of polymorphic STR allele frequencies and Y chromosome haplotype frequencies. *Progr. Forensic Genet.* 8: 109-125
- Bromlej, J. V. (1976): *Etnosz és néprajz*. Budapest
- Brown, M. S., Goldsrein, J. L. (1986): A recepto-mediated pathway for cholesterol homcostasis. *Science*, 232:34-47
- Brown, M. S., Goldsrein, J. L. (1986): A recepto-mediated pathway for cholesterol homcostasis. *Science*, 232, s. 34-47
- Brdečka, R. (1995): Lidský genom – Chromozom č. 2. *Čas. Lék. Čes.*, 134(2): 58-60.
- Budowle, B., Charkabarty, R., Giusti, A. M., Eisenberg, A. J., Allen, R. C. (1991a): Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by High-resolution PAGE. *Am. J. Hum. Genet.* 48(1):137-144.
- Budowle, B., Giusti, A. M., Waye, J. S., Bechtel, F. S., Fournery, R. M., Adams, D. E., Prestley, L. A., Deadman, H. A., Monson, R. L. (1991b): Fixed-bin analysis for statistical evaluation of continuous distribution of allelic data from VNTR loci for use in forensic comparison. *Am. J. Hum. Genet.*, 48: 841-855.
- Butler, J., M. (2001): *Forensic DNA typing*. Academic press

- Çakir, A. H., Simsek, F., Altunbas, S., Tasdelen, B. (2001): Distribution of THO1, TPOX, CSF1PO, vWA, D13S317, D7S820 and D16S539 alleles in a Turkish population sample. *For. Sci. Int.*, 124:224-225.
- Campbell, T. B., Fitzpatrick, L., McWhinney, S., Zhang, X., Schooley, R. T. (1999): Human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) infection in men receiving treatment for HIV-1 infection. *J. Acquir Immune Defic. Syndr.* 22(4): 333-40
- Chakraborty, R., Fornage, M., Gueguen, R., Boerwinkle, E. (1991): Population genetics of hypervariable loci: analysis of PCR based VNTR polymorphism within a population. In: Pörtl, R., Luckenbach, C., Reinhold, J., Fimmers, R., Ritter, H. (1996): Comparison of German population data on the apoB-HVR locus with other Caucasian, Asian and Black populations. *Forensic Science International*, 80:221-227.
- Chen, Ch., Lai Ml., Lai Md., Huang, J.D. (1997): Apolipoprotein B gene polymorphisms in Taiwanese ischemic stroke patients. *J. Formos. Med. Assoc.* 96 (7): 499 - 502.
- Chlebovská, K., Bernasovský, I., Bernasovská, J. (1998): Koeficient inbrídingu v rómskej populácii východoslovenského regiónu. *Bull. Slov. Antropol. Spoloč.*, 1 : 49-51.
- Choli-Daróczi, J., Feyér, L. (1988): *Zhanes romanes? Cigány nyelvkönyv.* Budapest.
- Choong, M. L., Koay, E. S. C., Khaw, M. C., Aw, T. C. (1999): Apolipoprotein B 5'-Ins/Del and 3'-VNTR Polymorphism in Chinese, Malay and Indian Singaporeans. *Hum Hered.*, 49:31-40.
- Chuah, S. Y., Tan, W. F., Yap, K. H., Tai, H. E., Chow, S. T. (1994) Analysis of the D1S80 locus by amplified fragment length polymorphism technique in the Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Forens. Sci. Int.* 68: 169-180
- Clebert, J. P. (1965): *Los Gitanos.* Ed Aymá. Barcelona.
- Czeizel E. (1990): *Hodnota je v nás, Smena,* Bratislava
- Dalimil (1308-1314): *Kronika česká* In Nečas, C. (1997): *Historický kalendár,* Olomouc.
- Dauber, E.M., Glock, B., Schwartz, D.W.M., Mayr, W.R. (1998) Sequencing and population data of a short tandem repeat locus in the human alpha fibrinogen gene (HUMFGA) in an Austrian population sample. *Progr. Forensic Genet.* 7: 264-266
- Davidová, E. (1995): *Cesty Romů – Romano Drom 1945 – 1990.* Olomouc Holomek, K in Gabal, I. a kol. (1999): *Etnické menšiny ve střední Evropě.* Praha
- Dávidová-Turčinová, E. (1970): K vymezení a specifikte současného cikánskeho problému v Československu. *Sociol. Čas.* 1, 29-41.
- Dávidová-Turčinová, E. (1972): Specifika rómskeho etnika, K problematice Rómu, Sborník materiálů ze západočeské konference v Horním Slávkově. *Krajské kulturní středisko v Plzni*, 34-56.
- Decorte, R., Cuppens, H., Marynen, P., a kol. (1990): Rapid detection of hypervariable regions by the polymerase chain reaction technique. *DNA Cell. Biol.*, 46: 461-469.
- Deka, R., Chakraborty, R., DeCroo, S., Rothhammer, F., Barton, S. A., Ferrell, R. E. (1992): Characteristics of Polymorphism at a VNTR Locus 3' to the Apolipoprotein B Gene in Five Human Populations. *Am. J., Hum., Genet.*, 51:1325-1333.
- Deka, R., DeCroo, S., Jin, L., McGarvey, S. T., Rothhammer, F., Ferrell, R. E., Chakraborty, R. (1994) Population genetic characteristics of the D1S80 locus in seven human populations. *Hum. Genet.* 94: 252-258
- Deka, R., DeCroo, S., Yu, L. M., Ferrell, R. (1992): Variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism at locus D17S5 (YNZ22) in four ethnically defined human populations. *Hum. Genet.*, 90:86-90.
- DeLisi, C. (1988): The humane genome project. *Amer. Sci.*, 76: 488-493.
- Demidova, I. A., Surin, V. L., Mendeleeva, L. P., Savchenko, V. G. (1997): Amplification of hypervariable genomic regions for establishment of the type of hematopoiesis in hemoblastosis patients after allogeneic bone marrow transplantation. *Genetika. Apr;* 33(4):546-9
- Dieffenbach, C. W., and Dvksler, G. S. (1995): *PCR primer a laboratory manual.* CSHL press, Cold Spring Harbor, USA.
- Diósi, Á. (1988): *Cigányút.* Budapest.
- Dockhorn-Dworniczak, B., Poremba, Ch., Dantcheva, R., Stücker, A., Brommelkamp, E., Blasius, S., Mellin, W., Roessner, A., Yander, W. D., Bocker, W. (1994): Rapid detection of loss of heterozygosity of chromosome 17p by polymerase chain Reaction-based variable number of tandem repeat analysis and detection of single-strand conformation polymorphism of intragenic p53 polymorphisms. *Virchows Archiv.* 424: 337-342
- Dokládál, M. (1974): Výsledky somatologického výzkumu brněnských cikánských dětí školního věku v roce 1967, *Scr. Med. (Brno)*, 47: 211-215.
- Dokládál, M. (1980): Změny v prořezávání zubů trvalého chrupu u cikánské mládeže jako projev vlivu měnicího se životního prostředí. *Scr. Med. (Brno)*, 53: 441-448.

- Dokládál, M. (1981): Dentition in the Gypsy children and youth Part I.: Introduction. Total number of deciduous and permanent teeth at the chronological age between 4 and 16 years. *Scr. Med. (Brno)*, 54: 347-360.
- Dokládál, M. (1985): Problems of puberty in Gypsy youth. *Acta Univ. Caroline, Biologia* 12: 193 -196.
- Dokládál, M. (1992): Somatologie romské (cikánské) mládeže na Moravě. *Sborník Čs. Společnosti antropologické*. Brno, 1-23.
- Dokládál, M. (1993): Somatologie romské (cikánské) mládeže na Moravě. II. *Sborník Čs. společnosti Antropologické při Čs. akademii věd*, 44: 15-24.
- Dokládál, M., Hamplová M. (1975): Základní ukazovatele tělesného vývoje cikánské mládeže na Moravě. *Scr. Med. (Brno)*, 48: 313-319.
- Dokládál, M., Hamplová M. (1977): Vlivanie izmenných žiznevých uslovij na fizičeskoje razvitije cikánskoj molodeži. *Acta fac. Med. Univ. Brunensis*, 279-290.
- Doškar, J. In Rosypal, S. (1997): Úvod do molekulární biologie III. Brno, 560-839.
- Dutta, R., Kashyap, V. K. (2001): Allele frequency of six STR loci among three predominant population groups of eastern India. *Forensic Science International*, 119:129-130
- Egyed, B., Füredi, S., Angyal, M., Boutrand, L., Vandenberghe, A., Woller, J., Pádár, Z. (2000) Analysis of eight STR loci in two Hungarian populations. *Int. J. Legal Med.* 113:272-275
- Elie, C., Salhi, S., Rossingol, J. M., Forterre, P., deRecondo, A. M. (1988): A DNA polymerase from a thermoacidophilic archaeobacterium: evolutionary and technological interests. *Biochem. Biophys. Acta* 951: 261-67
- Ely, J., Deka, R., Chakraborty, R., Ferrell, R. E. (1992): Comparison of five tandem repeat loci between humans and chimpanzees. *Genomics*, 14: 692-698.
- Enescei, Gy. (1798): A' tzigán nemzetnek igaz eredete, nyelve, története In Szegő, L. (1983): *Cigányok, honnét jöttök – merre tartanak?* Budapest.
- Encyklopédia Slovenska (1977): I. Zväzok, Bratislava, 320-322
- Entrala, C., Lorente, J.A., Lorente, M., Alvarez, J.C., Budowle, B., Villanueva, E. (1999) Spanish population data on the loci D13S317, D7S820, and D16S539 generated using silver staining (SilverSTR III™ Multiplex). *J. Forensic Sci.* 44: 1032-1034
- Entrala, C., Lorente, M., Lorente, J.A., Alvarez, J.C., Moretti, T., Budowle, B., Villanueva, E. (1998) Fluorescent multiplex analysis of nine STR loci: Spanish population data. *Forensic Sci. Int.* 98: 179-183
- Erényi, T. (1996): A zsidók története Magyarországon a honfoglalástól napjainkig. Budapest
- Erlich, H. A. (1989): PCR technology: Principles and applications for DNA amplification. Stockton Press, New York.
- Evvett, I. W., Gill, P. D., Lambert, J. A., Oldroyd, N., Frazier, R., Watson, S., Panchal, S., Conolly, A., Kimpton, C. (1997) Statistical analysis of data from three British ethnic groups from a new STR multiplex. *Int. J. Legal Med.* 110: 5-9
- Falcone, E., Spadafora, P., De Luca, M., Ruffolo, R., Brancati, C., De Benedictis, G. (1995) DYS19, D12S67, and D1S80 polymorphisms in population samples from Southern Italy and Greece. *Hum. Biol.* 67: 689-701
- Feder, K. L., Park, M. A. (1989): *Human Antiquity. An Introduction to Physical Anthropology and Archeology*. California
- Ferák, V., Sršeň, Š. (1981): *Genetika človeka*. Bratislava.
- Ferrer, J. A. (1965): „Tinabién los gitanos”. Public. De Caritas Diocesana, Barcelona
- Ficowski, J. (ISBN 83-223-2321-2): *The Gypsies in Poland*. Warsawa
- Ficovski, J. (1953): *Cyganie Polski*. Warsawa
- Fischer, R. A., Newlands, E. S. (1993): Rapid diagnosis and classification of hydatidiform moles with polymerase chain reaction. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 168(2): 563-9.
- Flores, I., Frias, I., Prieto, V., Andres, I., Sanz, P. (2001): Population data for Southern Spain and Canary Islands of HLADQA1, PM and D1S80 loci. *For. Sci. Int.*, 119:116-118.
- Foreman, L. A., Evett, I. W. (2001): Statistical analyses to support forensic interpretation for a new ten-locus STR profiling system. *In. J. Leg. Med.* 114:147-155
- Fraser, S. A. (1996): *A cigányok*. Budapest
- Fraser, S. A. (1992): Looking into the seeds of time. *Tsiganologische Studien*, č.1-2, 135-166.
- Frégeau, C.J., Tan-Siew, W.F., Yap, K.H., Carmody, G.R., Chow, S.T., Fournay, R.M. (1998) Population genetic characteristics of the STR loci D21S11 and FGA in eight diverse human populations. *Hum. Biol.* 70: 813-844
- Friedl, W., Ludwig, E. H., Paulweber, B., Sandhofer, F., McCarthy, B. J., (1990): Hypervariability in a minisatellite 3' of the apolipoprotein B gene in patients with coronary heart disease compared with normal controls. *J. Lipid Res.*, 31: 659-665.

- Friedlander, Y., Kaufmann, N. A., Cedar, H., Weiberg, N., Kark, J. D. (1993): The role of XbaI polymorphism of the apolipoprotein gene in determining levels of covariability of lipids and lipoproteins variables in a sample of Israeli offspring with family history of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 98: 2, 165–177.
- Ford, E. B., 1965: *Genetics polymorphism*. London.
- Fuentes, J. J., Dierssen, M., Pucharcos, C., Fillat, C., Casas, C., Estivill, X., Pritchard, M. (1999): Application of Alu-splice PCR on chromosome 21: DSCR1 and Intersectin. *J Neural Transm Suppl* 57: 337–52
- Fujita, N., Tamura, S., Shimizu, N., Nozawa, S. (1994): Genetic origin analysis of hydatidiform mole and non-molar abortion using the polymerase chain reaction method. *Acta-Obstet-Gynecol-Scand.* 73(9): 719–25
- Füredi, S., Angyal, M., Kozma, Z., Sétáló, Woller, J., Pádár, Z. (1997) Semi-automatic DNA profiling in a Hungarian Romany population using the STR loci HumVWA31, HumTH01, HumTPOX, and HumCDF1PO. *Int. J. Legal Med.* 110: 184–187
- Füredi, S., Kozma, Z., Woller, J., Pádár, Z., Angyal, M., Bajnóczky, I., Nishi, K. (1998): Population genetic data on four STR loci in a Hungarian Romany population. *Int. J. Leg. Med* 112(1): 72–74
- Gáliková, J., Vilimková, M., Ferák, V., Mayerová, A. (1969): Haptoglobintypes in Gypsies from Slovakia (Czech.). *Hum. Hered.* 19: 480–485.
- Gárdonyi, G. (1960): *Egri csillagok*, Budapest
- Gasparini, P., Mandich, P., Novelli, G., Bellone, E., Sangiulio, F., De-Stefano, F., Potenza, L., Trabetti, E., Marigo, M., Pignatti, P. F., kol. (1991): Forensic applications of molecular genetic analysis: an Italian collaborative study on paternity testing by the determination of variable number of tandem repeat DNA polymorphisms. *Hum-Hered.* 41(3): 174–81
- Géczi, J. (1991): PCR amplification of large VNTR alleles of D17S5 (YNZ22) locus. *Nucl. Acids Res.* 19(20): 5806.
- Gené, M., Fuentes, M., Huguet, E., Piqué, E., Bert, F., Corella, A., Pérez-Pérez, A., Corbella, J., Moreno, P. (1998): Quechua Amerindian Population Characterized by HLA-DQ a YNZ22, 3'APO B, HUMTH01, and HUMVWA31A polymorphisms. *J. Forensic. Sci.* 43: 403–5
- Gené, M., Huguet, E., Sánchez-García, D., Moreno, P., Corbella, J., Mezquita, J. (1995): Suitability of the YNZ22 (D17S5) VNTR polymorphism for legal medicine investigations in the population of Catalonia (Spain). *Int. J. Leg. Med.* 107: 222–224
- Gené, M., Huguet, E., Sanchez-García, C., Moreno, P., Corbella, J., Mezquita, J. (1995): Study of the 3'-ApoB minisatellite performed by PCR in the population of Catalonia (Northeast Spain). *Hum. Hered.* 45: 70–74
- Genome DataBase (GDB) http://www.oml.gov/TechResources/Human_Genome/genetics.html <http://gdbwww.gdb.org/>
- Georges, M., Gunawardana, A., Threadgill, D. W., Lathrop, M., Olasker, I., Mishra, A., Sargeant, L.L., et al. (1991): Characterization of a set of variable number of tandem repeat markers conserved in Bovidae. *Genomics*, 11: 24–32.
- Gerhard, D. S., Kawasaki, F.C. et al. (1981): Localization of a unique gene by direct hybridization in situ. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 78, s. 3755–3759.
- Grellmann, H. M. (1783): *Die Zigeuner* In Szegő, L. (1983): *Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak?* Budapest Goldstein, J. L., Brown, M. S. (1998): Familial hypercholesterolemia. In: Scriver, C. R. et al.: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 6 ed. New York, McGraw-Hill, 1215–1250.
- Grellmann, H. M. (1787): *Historischer Versuch über die Zigeuner betreffend die Lebensart und Verfassung, Sitten und Schicksale dieses Volks seit seiner Erscheinung in Europa und dessen Ursprung*. Gottingen.
- Gobineau (1855): *Essai sur l'inegalite des rasa humaines* In Szegő, L. (1983): *Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak?* Budapest.
- Guglielmo, R. (1992): *The Gypsy Road*. U.S. Peace Corps, Nagykanizsa
- Habsburg, J. (1888): *Czigány nyelvtan – Románo csibákero sziklaribe*, Hozzáköte Ponori Thewrewk Emil: Irodalmi kalauz. Budapest, M.T. Akadémia.
- Hamplová, M. (1974): Vývoj obvodových měř u cikánské mládeže. *Zprávy Čs. spol. antropol.*, 27: 15–17.
- Hamplová, M. (1978): On the weight and length of Gypsy newborn children. *Acta fac. Med. Univ. Brunensis*, 57: 123–130.
- Hancock, I. (1988): The development of Romani linguistics. In Jazayery, M. A., Winter, W.: *Languages and Cultures: Studies in Honor of Edgard C. Polomé*. Berlin, 183–223.
- Hancock, J. F. (1987): *The Pariah Syndrome*, Ann Arbor.
- Harant, K.: *Krest'anský Odysseus*, Praha, 1608. In Suchý, J. (1972): *Vývojová antropologie obyvatel'stva ČSR*, Univ. Karlova Praha.

- Harris, L. (1998): Comanche and Roma: Part of a Global Struggle. The Roma and Europe conference proceedings, Štířín, December 10-13, 1998
- Hegele, R. A., Huang, L. S., Herbert, P. N., Blum, C. M., Buring, J. E., Hennekens, C. H., Breslow, J. L. (1986): Apolipoprotein B - gene DNA polymorphisms associated with myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 315: 1509-1515.
- Heidenheimer, A. J.: Politická korupcia In: Szegő, L. (1983): Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak? Budapest.
- Helfgott, S. M., Mosciski, R. A., San Martin, J., Lorenzo, C., Kieval, R., McKenna, M., Nadol, J., Trentham, D. E. (1991): Correlation between antibodies to type II collagen and treatment outcome in bilateral progressive sensorineural hearing loss. *Lancet* 337: 387-389.
- Hirschfield, L., Hirschfield, H. (1919): Essai d'application des methodes sérologiques au problème des races. *L'Anthropologie Paris*, 29: 505-537.
- Hitler, A. (1996): Harcom (Mein Kampf), Interseas Editions, Hódmezővásárhely.
- Holec, R. (2000): Dynastická vernost' ako atribút Slovákov. In Baďurík, J., Kónya, P.: Slovensko v Habsburskej monarchii 1526 – 1918. Bratislava, 105-122.
- Horn, G. T., Richards, B., Klinger, K. W. (1998): Amplification of a highly polymorphic VNTR segment by the polymerase chain reaction. *Nucl. Acids. Res.* 17: 2140
- Horton, J. R., Wang, L., Bradham, D., a kol. (1992a): The control of expression of type II collagen: relevance to cartilage disease. *DNA Cell Biol.*, 11: 193-198.
- Horton, W. A., Machado, M. A., Ellard, J., Campbell, D., Bartley, J., Ramirez, F., Vitale, E., Lee, B. (1992b): Characterization of a type II collagen gene (COL2A1) mutation identified in cultured chondrocytes from human hypochondrogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 89: 4583-4587.
- Horváthová, E. (1964): Cigáni na Slovensku. Vydavateľstvo SAV, Bratislava.
- Horváthová, E. (1988): K etnografickej a migračnej dynamike Cigánov. *Slovenský národopis*, 1, 36: 10-21.
- Hořínek, A., Šležka, V., Šobra, J., Česka, R. (1995): Možnosti DNA analýzy u heterozygotú familiární hypercholesterolémie. *Čas. Lék. Čes.*, 134(8): 234-239.
- Hou, Y., Mielke, A., Mulcahy-Schröder, M., Prinz, M., Siváková, D., Walter, H. (1998) Genetic variation at the short tandem repeat loci HUMTH01 and HUMVWA31 within and between German and Slovak populations. *Anthropologie* 36: 255-259
- Hou, Y., Schmitt, C., Staak, M., Puers, Ch., Pritz, M. (1994): Genetic variation of the amplified VNTR polymorphism Col2A1 in Chinese and German population. *Hum. Hered.* 44:114-119.
- Huckenbeck, W., Scheil, H.-G., Schmidt, H.D., Efremovska, L., Xiroiris, N. (2001) Population genetic studies in the Balkans. II. DNA-STR-systems. *Anthrop. Anz.* 59: 213-225
- Huckenbeck, W., Schmidt, H.D., Scheil, H.-G., Scheffrahn, W. (2000) DNA-PCR systems TH01 and VWA31: Population data from Albania and Rumania. *Anthrop. Anz.* 58: 171-176
- Hudáková, T., Bernasovský, I., Groch, J., Bernasovská, K. (1979): Hladiny gonadotropných hormónov u dievčat vo vzťahu ku stupňom dospievania. *Čs. Hyg.*, 24: 327-333.
- Hudáková, T., Bernasovský, I., Bernasovská, K. (1982): Pohlavný vývin a hladiny gonadotropných hormónov u dospievajúcich dievčat z okresu Humenné so zameraním na etnické rozdiely u Cigánov. *Čs. Gynek.*, 47: 169-175.
- Hudáková, T., Bernasovský, I., Bernasovská, K. (1983a): Vývin hladín gonadotropných hormónov v priebehu pohlavného dospievania u cigánskych a necigánskych detí. *Čs. Hyg.*, 28: 51-56.
- Hudáková, T., Bernasovský, I., Bernasovská, K., Maheľová, O. (1983b): Sérové hladiny gonadotropných hormónov u detí Východoslovenského kraja. *Čs. Ped.*, 38: 590-594.
- Huang, L. S., Breslow, J. L. (1987): A unique AT-rich hypervariable minisatellite3' to the ApoB gene defines a high information restriction fragment length polymorphism. *J. Biol. Chem.*, 262: 8952-8955.
- Human Genome Project(HGP) http://www.oml.gov/TechResources/Human_Genome/home.html
- Human Genome Organisation (HUGO) <http://www.gene.ucl.ac.uk/hugo/>
- Humphries, S.E. (1988): DNA polymorphisms of the apolipoprotein genes - their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidaemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 72: 89-108.
- Humphries, E., Talmud, P. J., Kessling, A. M. (1987): Use of DNA polymorphisms of the apolipoprotein genes to study the role of genetic variation in the determination of serum lipid levels v Ciba Foundation Symposium 130. Chichester, J. Wiley & Sons. 128-149.
- Hunter, M., Heyer, E., Austerlitz, F., Angelicheva, D., Nedkova, V., Briones, P., Aata, G., De Pablo, R., László, A., Bosshand, N., Gitzelmann, R., Tordai, A., Kalmar, L., Szalai, C., Balogh, I., Lupu, C., Corches, G., Popa, Perez-Lezaun, A. and Kalaydjieva, L. (2002): The P28T mutation in the galk1 gene accounts for galactokinase deficiency in roma (gypsy) patients across Europe. *Pediatr. Res.* 51:602-606.

- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J. (1990): PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, New York.
- Innis, M. A., Myambo, K.B., Gelfand, D. H., Brow, M. A. D. (1988): DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 9436-40.
- Izumi, Y., Tatsumi, K., Okamoto, S., Hosokawa, A., Ueno, S., Fukui, H., Amino, N. (1999): A novel mutation of the KAL1 gene in Kallmann syndrome. *Endocr J.* 46(5): 651-8
- Jamnická-Šmerglová, Z. (1955): *Dejiny našich Cikánů*. Orbis, Praha
- Jeffreys, A. J., Wilson, V., Thein, S. L. (1985): Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. *Nature*, 314: 67-73.
- Juričková, J., Barlová, E., Bernasovský, I. (1996): Distribution of class HLA antigen in Gypsies living in Podhorany settlement. *Proceeding of 9th Congress of Czech Anthropological Society*, Brno 76-79.
- Jenner, K., Sidoli, A., Ball, M., Rodriguez, J. R., Pagani, F., Gindici, G., Vergani, C., Mann, J., a spol. (1988): Characterization of genetics markers in the 3' end of the apoB gene and their use in family and population studies. *Atherosclerosis* 69: 39-49.
- Juričková, J., Bernasovský, I., Halko, N., Biroš, I. (1993a): The gene serum group frequencies in the population on East Slovakia. *Anthropologie*, 1-2: 5-6.
- Juričková, J., Bernasovský, I., Halko, N., Biroš, I. (1993b): The gene blood group frequencies in the population of East Slovakia. *Anthropologie*, 1-2: 7-9.
- Juričková, J., Bernasovský, I., Halko, N., Biroš, I. (1994): Red cell isoenzyme polymorphism in the East Slovakian population. *Gene Geography*, 8: 117-120.
- Juričková, J., Bernasovský, I., Halko, N. (1993): Distribúcia antigénov HLA v populácii východného Slovenska. *Proc. of 19th Congress of Czech and Slovak Anthropologists*, Prague 179-182.
- Kádasi, L., Géczi, J., Feráková, I., Lubyová, B., Bohušová, T., Feráková, E., Poláková, H. (1994): Distribution of apoBII, MCT 118 (D1S80), YNZ 22 (D17S30), and COL2A1 AMP-FLP (amplified fragment length polymorphism) in caucasoid population of Slovakia. *Gene Geography*, 8: 121-127.
- Kalibová, K. (1993): Gypsies in the Czech Republic and the Slovak Republic: Geographic and demographic characteristics. *GeoJournal*, 30, 3, 255-258.
- Kamarýt, J. (1995): Lidský genom se zvláštním zřetelom k chromozomu č.1. *Čas. Lék. Čes.*, 134(1):24-29.
- Kamboh, M. I., Serjeantson, S. W., Ferrel, R. E. (1991): Genetic studies of human apolipoproteins XVIII. Apolipoprotein polymorphism in Australian Aborigines. *Hum. Biology*, 63(2): 179-186.
- Kasai, K., Nakamura, Y., White, R. (1990): Amplification of a variable number of tandem repeats (VNTR) locus (pMCT118) by polymerase chain reaction (PCR) and its application to forensic science. *J. Foren. Sci.* 35: 1196-1200
- Karsai, E. (1996): *Egy kis cigány nyelv a népköltészet tükrében*. Budapest.
- Karsai, E. (1982): *Tanuljunk cigányul*, Budapest.
- Katsuyama, Y., Inoko, H., Imanishi, T., Mizuki, N., Gojobori, T., Ota, M. (1998): Genetic Relationships among Japanese, Northern Han, Hui, Uyghur, Kazakh, Greek, Saudi Arabian, and Italian Populations Based on Allelic Frequencies at Four VNTR (D1S80, D4S43, Col2A1, D17S5) and One STR (ACTBP2) Loci. *Hum. Her.* 48:126-137
- Khatib, H., Ezzughayyar, M., Ayesh, S. (1997) The distribution of the vWF alleles and genotypes in the Palestinian population. *J. Forensic Sci.* 42: 504-505
- Kiszely, I. (1979): *A Föld népei. Európa népei I*. Budapest
- Kimura M., Ohta, T. (1971): Theoretical aspects of population genetics. *Princeton Univ. Press*, Princeton.
- Kimura, M. (1975): genetics. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 11: 234-236.
- Kimura, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Klíma, J. (1997): Exodus jsem nezpůsobil. *Koktejl*, 12:30-31.
- Klitschar, M., Al Hammadi, N. (1998) A study on five short tandem repeat systems in a Yemenian population sample. *Progr. Forensic Genet.* 7: 300-302
- Klitschar, M., Ebner, A., Reichenpfader, B. (1999) Population genetic studies on nine short tandem repeat loci using fluorescence dye-labeled primers and capillary electrophoresis in the population. *Electrophoresis* 20: 1740-1742
- Klitschar, M., Kubat, M., Ebersold, A. (1995) The distribution of D1S80 (pMCT118) alleles in an Austrian population sample - description of two new alleles. *Int. J. Legal Med.* 107: 225-226
- Knott, T. J., Wallis, S. C., Pease, R. J., a kol. (1986): A hypervariable region 3' to the human apolipoprotein B gene. *Nucl. Acids Res.*, 14: 9215-9216.

- Knowlton, R. G., Katzenstein, P., Moskowitz, R. W., Weaver, E. J., Jimenez, S. A., Pathria, M. N., Malemud, C. J., Prockop, D. J. (1989): Genetic linkage of the type II procollagen gene to primary generalized osteoarthritis with chondrodysplasia. *Cytogenet. Cell Genet.* 51: 1024.
- Kochanowski, J. (1963): *Gypsy Studies*. Dili.
- Kondopoulou, H., Loftus, R., Kouvatsi, A., Triantaphyllidis, C. (1999) Genetic structure in 5 Greek population samples using 12 highly polymorphic DNA loci. *Hum. Biol.* 71: 27-42
- Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): *Molekuláris medicina*. Budapest.
- Kotze, M. J. a kol. (1986): A DNA polymorphism in the human low-density lipoprotein receptor gene (LDLR). *S. Afr. J. Med.*, 70: 77-79.
- Křemen, J., Pohlreich, P. J. (1998): *Techniky molekulární biologie a jejich využití v medicíne*. Skriptá, Praha.
- Lachaud, L., Dereure, J., Chabbert, E., Reynes, J., Mauboussin, J. M., Oziol, E., Dedet, J. P., Bastien, P. (2000): Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-Up of visceral leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. *J Clin Microbiol* 38(1): 236-40
- Lasfargues, G., Landman-Parker, J., Blaise, A., Brison, O., Leverger, G. (1995): Value of the analysis of cellular chimerism following bone marrow graft by amplification of minisatellite sequences or specific of the Y chromosome. *Bull-Acad-Natl-Med.* 179(2): 357-65; discussion 365-6
- Lászik, A., Sótónyi, P.: DNS-vizsgálatok az igazságügyi orvostanban. In Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): *Molekuláris medicina*. Budapest, 106-111.
- Lászik, A., Weisser, H.-J., Keresztury, L., Pollak, S. (1999) Allele frequencies for the VNTR locus D17S5 (YNZ22) in Hungary. *Int. J. Legal Med.* 112: 336
- Law, S. W., Lackner, K. J., Hospattankar, A. V., Auchors, J.M., Sakaguchi, A. Y., Naylor, S. L., Brewer, H. B. (1985): human apolipoprotein B-100: cloning analysis of liver mRNA, and assignment of the gene to chromosome 2. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 82: 8340-8344.
- Liégeois, J. P. (1995): *Rómovia, Cigáni, Kočovníci*. Academia Istropolitana, Bratislava.
- Lim, K. B., Jeevan, N. H., Jaya, P., Othman, M. I., Lee, Y. H. (2001): STR data for the AmpFISTR Profiler loci from the three main ethnic population groups (Malay, Chinese and Indian) in Malaysia. *For. Sci. Int.*, 119:109-112.
- Linch, C. A., Smith, S. L., Prahlow, J. A. (1998): Evaluation of the human hair root for DNA typing subsequent to microscopic comparison. *J. Forensic Sci.* 43(2): 305-14
- London Conference (1991): 11th International Workshop on Human Gene Mapping. *Cytogenet. Cel. Genet.*, 55: 2197.
- Lorente, M., Lorente, J.A., Wilson, M.R., Budowle, B., Villanueva, E. (1997) Spanish population data on seven loci: D1S80, D17S5, HUMTH01, HUMVWA, ACTBP2, D21S11 and HLA-DQA1. *Forensic Sci. Int.* 86: 163-171
- Ludwig, E. H., Friedl, W., McCarthy, B. J. (1989): High-resolution analysis of a hypervariable region in the human apolipoprotein B gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 45: 458-464.
- Luis, J. R., Caeiro, B. (1996): Further genetic variability of the VNTR D1S80 (pMCT118): Correspondence analysis studies. *Am. J. Hum. Biol.* 8: 81-87.
- Mačurová, L. (1981): Dermatoglyfy dlaní u Cigánov na Východnom Slovensku. *Zborník Ped. Fak. UPJŠ v Prešove*, 83-86.
- Mačurová, L. (1983): Dermatoglyfy u detí cigánskeho pôvodu na Východnom Slovensku (Presty a ruky). *Acta Univ. Comen., Antropologie*, 28-29.
- Mačurová, L. (2001): Dermatoglyfy u Rómov z Jarovnic (Okres Sabinov). *Bull. Slov. Antropol. Spoloč.* 4:105-108.
- Mačurová, L. (2002): Dermatoglyfy Rómov z východného Slovenska. *Zborník ref. Biologické dni, Nitra*, 335-336.
- Major, Á. (1999): Genetikai polimorfizmusok. Prednášky na Prírodovedeckej fakulte Univerzity Eötvösa Loránda v Budapešti.
- Malá, H. (1973a): Body characteristics of new-born Gypsies from Bohemia. *Glasnik Antropološkog društva Jugoslavije*, 10: 107-110.
- Malá, H. (1973b): Socio-biological study of new-born Gypsy children. *Anthropologie*, 11:53-55.
- Malá, H., Machová, J. (1978): Birtweight of newborn Romanies and their physical development during the school age period. *Folia Morphol.*, 24: 260-261.
- Malá, H. (1975): Problematika současného vývoja a výchovy Cikánů a regionální antropologická studie cikánských školních dětí ve Východočeském kraji. *Sborník Ped. Fak. UK Praha, -biologie*, 3: 37-122.
- Malý, J. (1937): Cikáni. *Radiojournal*, 31: 13-14.

- Malý, J. (1939): Něco o Cikánech. Naši přírodou, Praha, 3: 197-198.
- Mandich, P., Bellone, E., Massari, A., Ajmar, F. (1991): Polymerase chain reaction (PCR) amplification of hypervariable genomic sequences. *Boll-Soc-Ital-Biol-Sper.* Oct-Nov; 67 (10-11): 907-13
- Mann B., A. (1995): Premeny spoločenského postavenia Rómov na Slovensku po roku 1989. In *Rómovia na Slovensku a v Európe – z dokumentov medzinárodnej konferencie Smolenice 6. mája 1994*, vydalo Informačné a dokumentačné stredisko o Rade európy, Bratislava
- Marcsek, Z. Gének és HUGO. In Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): *Molekuláris medicina*. Budapest, 14-29
- Mastana, S. (1999): Genetic analysis of the D1S80 locus in five North Indian populations. *Annals of Human Biology*, 26(5):405-411.
- Mastana, S.S., Papiha, S.S. (2001) D1S80 distribution in world populations with new data from the UK and the Indian sub-continent. *Ann. Hum. Biol.* 28: 308-318
- Mastana, S. S., Reddy, P. H., Das, M. K., Reddy, P., Das, K. (2000): Molecular genetic diversity in 5 population of Madhya Pradesh, India. *Human Biology*, 72 (3): 499-510
- Maviglia, R., Dobosz, M., Boschi, I., Caglia, A., Hall, D., Capelli, C., d'Aloja, E., Pescarmona, M., Moschetti, A., Pascali, V. L., Destro-Bisol, G. (2001): A repository of 14 PCR-loci Italian gene frequencies in the world wide web. *For. Sci. Int.*, 115:99-101.
- Mazura, I., Bendlová, M., Vaňková, M., Včelák, J., Perušicová, J., Svatoš, J., Stefek, M., Zvárová, J. (1999): Genetic variation at the ApoB 3' VNTR in Czech general population and in Czech diabetes mellitus type II patient group. *J. Hum. Ecol.* (in press).
- McConlogue, L., Brow, M. A. D., Innis, M. A. (1988): Structure-independent DNA amplification by PCR using 7-deaza-2'-deoxyquanosine. *Nucleic Acids Res.* 16: 9869
- McDowell, B. (1970): *The Gypsies, wanderers of the World*. National Geographic Society. Washington.
- McPerson, M. J., Quirke, P., Taylor, G. R. (1992): *PCR. A practical approach*. IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, N. Y., Tokyo.
- Michalec, L. (1997): Cikáni ve střední Evropě. *Koktejl*, 12: 38.
- Miklosich, F. (1874): *Beiträge zur Kenntnis der Zigeunermundarten*. Wien.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., Polesky, H. F. (1988): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- Miyata, T., Yasunaga, T. (1980): Molecular evolution of mRNA: a method for estimating evolutionary rates of synonymous and amino acid substitutions from homologous nucleotide sequences and its applications. *J. Mol. Evol.*, 16: 23-36.
- Mohammed, A.A.A., Linacre, A.M.T., Vanezis, P., Goodwin, W. (2001) STR data for the GenePrint™ PowerPlex™ 1.2 system loci from three United Arab Emirates populations. *Forensic Sci. Int.* 119:328-329
- Mroz, L. (1966): *Na cyganskich szlakach*, Poznaj Swiat, Warszawa, 9: 11-15.
- Mukherjee, N., Majumder, P. P., Roy, B., Roy, M., Dey, B., Chakraborty, M., Banerjee, S. (1999): Variation at 4 Short Tandem Repeat Loci in 8 Population Groups of India. *Human Biology*, 71(3):439-446.
- Mullis, K. B., Faloona, F. A. (1987): *Methods in Enzymology*. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. 155: 335-50
- Mullis, K. B., Scharf, S. J. et al. (1986): Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold. Spring. Harbor. Symp. Quant. Biol.*, 51: 263-273
- Myant, N.B., Gallagher, J., Barbier, M., Thompson, G.R., Wile, D., Humpries, S.E. (1989): Restriction fragment length polymorphisms in apo B gene in relation to coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 77: 193-201.
- Nagy-Idai Sztojka, F. (1886): *Ö császári és magyar királyi Fenséges József Főherceg Magyar és cigány nyelv gyök-szótára – Románé álvá*. Kalocsa, 1-205.
- Nakajima, T., Matsuki, T., Ohkawara, H., Nara, M., Furukawa, K., Kishi, k. (1996): Evaluation of 7 DNA markers (D1S80, HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC) in a Japanese population. *Int. J. Legal. Med.* 109: 47-48.
- Nakamura, Y., Leert, M., O Connell, P., Wolf, R., Holm, T., Culver, M. et al. (1987): Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 235: 1616-1622.
- Nakamura, Y. (1995): Linkage analysis of hereditary cancer syndrome. *Nippon-Rinsho* 53 (11): 2640-6.
- Nakamura, Y. (1996): Application of DNA markers to clinical genetics. *Jpn. J. Hum. Genet.* 41 (1): 1-10.
- Nakamura, Y., Leppert, M., O'Connell, P. et al. (1987): Variable number of tandem repeats (VNTR), markers for human gene mapping. *Science*, 235: 1616-1622.

- Nečas, O. (1997): Historický kalendár, Olomouc.
- Nečas, O., Hejtmánek, M., Šmarda, J., Štart, O. (1989): Biologie. Avicenum, Praha.
- Nei (1972): Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106:283-292
- Nei (1975): In Biroš, E. (1997): Štúdium polymorfyzmov DNA u Rómov, Diplomová práca, Katedra antropológie a zoológie, PF UPJŠ Košice.
- Nelson, H., Jurmain, R. (1988): Introduction to Physical Anthropology. St. Paul. Nakamura, Y., Leppert, M., O'Connell, P., Lathrop, P., Wolf, R., Holm, T., Culver, M., Martin, C., Fujimoto, E., Hoff, M., Kumlin, E., White, R., 1987: Variable number of tandem repeats (VNTR) markers for human gene mapping. *Science*, 235: 1616-1622.
- Neuhuber, F., Radacher, M. (1998) Populationsgenetische Untersuchungen des AmpFLP-Systems YNZ22 in Österreich: Anwendung in forensischen Fragestellungen. *Rechtsmedizin* 9: 21-24
- Nováková, M. (1946): Cikáni v Užhorode. Disertační práce. Antropologický ústav Přírodovědecké fakulty UK, Praha.
- Nováková, M. (1969): Les Tziganes d'autrefois de la Tchécoslovaquie. *Anthropologie*, 7: 41-43.
- Nyitrai a Szilágyi, T. (1999): Kurz PCR metody na Univerzite Eötvösa Loránd v Budapešti.
- Okuhara, K., Tajima, S., Nakae, J., Sasaki, S., Tochimaru, H., Abe, S., Fujieda, K. (1999): A Japanese case with Frasier syndrome caused by the splice junction mutation of WT1 gene. *Endocr. J.* 46(5): 639-42
- Orgovánová, K. (1999): Roma in Slovakia. The Patrin Web Journal <http://www.geocities.com/Paris/5121/slovakia.htm>
- Origo (1999. 14.jún.): A Human Genom Projekt 2002-re befejeződhet. Tudomány+Technika, www.origo.hu/tudomany/real/990614human.html
- Origo (2000. 3. febr.): Az emberi génverseny a végéhez közeledik. Tudomány+Technika, www.origo.hu/tudomany/elet/000203azemberi.html
- Oz, C., Levi, J. A., Novoselski, Y., Volkov, N., Motro, U. (1999): Forensic identification of a rapist using unusual evidence. *J. Forensic Sci.* 44(4): 860-2
- Pádár, Zs., Füredi, S., Woller, J.: Polymorf DNS-lokusok PCR-amplifikációja. In Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): Molekuláris medicina. Budapest, 112-118.
- Pakkala, S., Lukka, M., Helminen, P., Koskimies, S., Ruutu, T. (1994): Paternity after bone marrow transplantation following conditioning with total body irradiation. *Bone-Marrow-Transplant.* Apr; 13(4): 489-90
- Pál, T.: Bakteriológia In Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): Molekuláris medicina. Budapest 54-80.
- Panneerchelvam, S., Vanaja, N., Baskar, D., Sivapriya, V., Damodaran, C. (2001): Distribution of alleles of 12 STR loci in Tamil population (south India). *For. Sci. Int.*, 119:126-128.
- Papiha, S. S., Thymann, M. (1994) Analysis of the locus D1S80: frequency distribution in North-East England and application to paternity testing. *Adv. Forens. Haemogenet.* 5: 193-195
- Paris Conference (1971): Standardization in Human Cytogenetics. Birth defects: Orig. Art. Series 8. 1-46, New York, The National Foundation.
- Paspati, A. (1870): Études sur les Tchingianes. Konstantinopol.
- Paulweber, B., Friedl, W., Krempler, F., Humpries, E. E., Sandhofer, F., (1990): Association of DNA polymorphism at the apolipoprotein B gene locus with coronary heart disease and serum very low density lipoprotein levels. *Atherosclerosis*, 10: 17-24.
- Pavúk, A. (2001): Fajčenie a jeho vplyv na graviditu a pôrod v závislosti od etnickej príslušnosti. *Bull. Slov. Antropol. Spoloč.* 4:142-145.
- Pavúk, A. (2002): Vplyv fajčenia na výskyt nízkej pôrodnej hmotnosti u rómskych a nerómskych novorodencov na východnom Slovensku. Zborník ref. Biologické dni, Nitra, 345-346.
- Pepinski, W., Janica, J., Skawronska, M., Niemcunowicz-Janica, A., Soltyszewski, I. (2001): Population genetic of 15 STR loci in the population of Podlasie (NE Poland). *For. Sci. Int.*, 124:226-227.
- Pérez-Lezaun, A., Calafell, F., Clarimón, J., Bosch, E., Mateu, E., Gusmão, L., Amorim, A., Benchemsi, N., Bertranpetit, J. (2000) Allele frequencies of 13 short tandem repeats in population samples from the Iberian Peninsula and Northern Africa. *Int. J. Legal Med.* 113: 208-214
- Perkin Elmer Cetus (1989): PCR Bibliography. Summer 1989, 38.
- Pestoni, C., Munoz, I., Comesana, M., Fernandez-Falcon, A., Garcia-Rivero, A., Rodriguez-Calvo, M. S. (1996): Distribution of the AMPFLPs YNZ22, 3'APOB and COL2A1 in the population of Galicia (NW Spain). *For. Sci. Int.*, 80:175-188.
- Pfützinger, H., Ludes, B., Mangin, P. (1994) HLA-DQ-alpha and D1S80 data from a French Caucasian population random sample versus sample of aircraft crash victims. *Adv. Forens. Haemogenet.* 5: 550-553

- Piasere, L. (1997): A ciganológusok szerelmei (Válogatott tanulmányok). Budapest.
- Perez, M. J., Hieri, J. M., Marrero, M. J., Gonzales, A. M., Cabrera, V. M. (1991): Human enzyme polymorphism in the Canary Islands. *Hum. Hered.* 41: 385-390.
- Petersen, G. M., Ward, J. I., Terasaki, P. I., Schanfield, M. S., Ferrell, R. E., Scott, E. M., Park, M. S. (1991): Genetic polymorphisms in southwest alaskan Eskimos. *Hum. Hered.* 41: 236 - 247.
- Plášilová, M., Stoilov, I., Sarfarazi, M., Kádasi, L., Feráková, E., Ferák, V. (1999): Identification of a single ancestral CZP1B1 mutation in Slovak Gypsies (Roms) affected with primary congenital glaucoma. *J. Med. Genet.* 36: 290-294.
- Pörtl, R., Luckenbach, C., Reinhold, J., Fimmers, R., Ritter, H. (1996): Comparison of German population data on the apoB-HVR locus with other Caucasian, Asian and Black populations. *Forensic Science International*, 80:221-227.
- Podolák, P. (1998): Národnostné menšiny v Slovenskej republike – z hľadiska demografického vývoja. Martin
- Popravčí kniha pánů z Rožmberka (1399) In Nečas, C. (1997): Historický kalendář, Olomouc.
- Poráčová, J., Šutiaková, I., Tanishima, K., Takabayashi, H., Štefániková, G., Sanitriková, Z. (2002): Využitie genealogickej metódy pri analýze vrodených mentálnych porúch u nerómskej a rómskej populácie. Zborník ref. Biologické dni, Nitra, 335-336.
- Poremba, C., Yandell, D. W., Huang, Q., Little, J. B., Mellin, W., Schmid, K. W., Bocker, W., Dockhorn-Dworniczak, B. (1995): Frequency and spectrum of p53 mutations in gastric cancer—a molecular genetic and immunohistochemical study. *Virchows-Arch.* 426(5): 447-55
- Pott, A. F. (1845): Die Zigeuner in Europe und Asien. Halle.
- Priestley, L., Knott, T., Wallis, S., Powell, L., Pease, R., Scott, J. (1985): RFLP for the human apolipoprotein B gene. II EcoRI. *Nucl. Acids Res.*, 13: 6790.
- Pyramída. Encyklopedický časopis moderného človeka. (1976): Bratislava, č. 59, Kasta s. 1862
- Rabinov, P. (1998): What is PCR? <http://sunsite.berkeley.edu/pcr/whatisPCR.html>
- Rand, S., Puers, C., Skowasch, K., Wiegand, P., Budowle, B., Brinkmann, B. (1992): Population genetics and forensic efficiency data of 4 AMPFLP's. *International Journal of Legal Medicine*, 104:329-333.
- Raskó, I.: Mutációk. In Kopper, L., Marcsek, Z., Kovalszky, I. (1997): Molekuláris medicina. Budapest, s. 41-52.
- Renges, H. H., Peacock, R., Dunning, A. M., Talmud, P., Humpries, S. E., (1992): Genetic relationship between the 3'-VNTR and diallelic apolipoprotein B gene polymorphisms: Haplotype analysis in individuals of European and South Asian origin. *Ann. Hum. Genet.*, 56: 11-33.
- Ricci, U., Biondi, C., Giovannucci Uzielli, M.L. (1998) YNZ22 population data in the Tuscany region (Central Italy). *Progr. Forensic Genet.* 7: 344-346
- Říčan, P. (1998): S Romy žít budeme – jde o to jak. Praha
- Řihošová, V. (2001): Frekvence alel v Col2A1 – VNTR lokuse. *Česká antropologie* 51:38-39.
- Ritvaniemi, P., Kōrkkö, J., Bonaventure, J., Vikkula, M., Hyland, J., Paassilta, P., Kaitila, I., Kääriäinen, H., Sokolov, B. P., Hakala, M., Mannismäki, P., Meerson, E., Klemola, T., Williams, C., Peltone, L., Kiviriko, K. I., Procop, D. J., Ala-Kokko, L. (1995): Identification of Col2A1 gene mutation in patients with chondrodysplasias and familial osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 38(7): 999-1004.
- Rolf, B., Waterkamp, K., Hühne, J. (1998) Allele frequency data for the FGA locus in eight populations. *Int. J. Legal Med.* 111: 55-56
- Romano-Racz, S. (1994): Kárpáti cigány – magyar, magyar – kárpáti cigány szótár és nyelvtan. Budapest.
- Ross, J., Parson, W., Furac, I., Kubat, M., Holland, M. (2001) Multiplex PCR amplification of eight STR loci in Austrian and Croatian Caucasian populations. *Int. J. Legal Med.* 115: 57-60
- Rosypal, S. (1996-1998): Úvod do molekulární biologie I.-III., Brno.
- Rousselet, F., Pfitzinger, H., Mangin, P. (1996) Multiplex amplification and automated fluorescent typing of short tandem repeat (STR) loci: The French Experience. *Adv. Forens. Haemogenet.* 6: 139-141
- Rousselet, F., Pfitzinger, H., Mangin, P. (1997) A pentaplex automated fluorescent typing system for forensic identification and French Caucasian population data. *J. Forensic Sci.* 42: 500-503
- Saiki, R., Schvarc, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., Arnheim, N. (1985): Enzymatic amplification of α -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230: 1350-54.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S., Higuchi, R., et al. (1988): Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-91.
- Sajantila, A., Budowle, B., Strom, M., Johnsson, V., Lukka, M., Ehnholm, C. (1992): PCR amplification of

- alleles at the D1S80 locus: comparison of a Finnish and a North American Caucasian population sample, and forensic casework evaluation. *Am. J. Hum. Genet.* Apr; 50(4): 816-25.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989): *Molecular cloning. A Laboratory manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor, Ny: Cold Spring Harbor, Laboratory Press.
- Sanghvi, L. D. (1966): *Vecinos gitanos*. Ed. Akal. Madrid.
- Sanz, P., Prieto, V., Flores, I., Torres, Y., Lopez-Soto, M., Farfan, M. J. (2001): Population data of 13 STRs in southern Spain (Andalusia). *For. Sci. Int.*, 119:113-115.
- Scheil, H.-G., Huckenbeck, W., Schuhen, S., Schulz, S. (2001) Genetische Studien im Regierungsbezirk Köln (Nordrhein-Westfalen, Deutschland): DNA-STR-Systeme FGA, TH01, VWA und YNZ22. *Anthrop. Anz.* 59: 233-242
- Schwartz, D. W. M., Dauber, E. M., Glock, B., Mayr, W. R. (1996) AMPFLP-typing of the D21S11 microsatellite polymorphism: allele frequencies and sequencing data in the Austrian population. *Adv. Forens. Haemogenet.* 6: 622-625
- Sekely von Doba (1763): *Wiener Anzeigen* In Horvátová, E. (1964): *Cigáni na Slovensku*, Vydavateľstvo SAV, Bratislava.
- Sekyt, V. (1998): Odlišnosti mentality Romů a původ těchto odlišností. In Šišková, T. (1998): *Výchova k toleranci a proti rasizmu*. Sborník. Praha, 69-74.
- Sepulchre, M. A., Wiegand, P., Brinkmann, B. (1995) D1S80 (pMCT118): analysis of 3 ethnic subpopulations living in Brussels. *Int. J. Legal Med.* 108: 45-47
- Setét, T. In Tuza, T. (1997): *Romamécs 2. Az interkulturális oktatás alternatív és kísérleti olvasókönyve*. Debrecen.
- Shoulders, C. C., Myant, N. B., Sidolli, A., Rodriguez, J. C., Cortese, R., Baralle, F. E. (1985): Molecular cloning of human LDL-apolipoprotein B cDNA. Evidence for more than one gene per haploid genome. *Atherosclerosis*, 58: 277-292.
- Siváková, D., (1983): Distribution of their red-cell enzyme polymorphism (ACP, PGM and AK) in Gypsies from Slovakia (Czechoslovakia). *Ann. Hum. Biol.*, 10: 449-452.
- Siváková, D., Siegllová Z., Lubyová, B., Nováková, J. (1994): A genetic profile of Romany subethnic group from a single region in Slovakia. *Gene Geography*, 8: 99-107.
- Siváková, D., Hlúbiková, I. (1991). *Pigmentácia vlasov u olašských Rómov*. Správy čl. spol. antropol.
- Škvára, J. (1997): *Původ a historie Romů*. Nedotknutelní. Koktejl, 12: 34-37.
- Soravia, G. (1984): *A Wandering Voice: The Language of the Gypsies*. The Patrin Web Journal <http://www.geocities.com/Paris/5121/language.htm>
- Soutal, A. K. a kol. (1989): Identification of a point mutation in growth factor repeat C of the low density lipoprotein-receptor gene in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia that affects ligand binding and intracellular movement of receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 4166-4170.
- Southern, E. M. (1975): Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98: 503-517.
- Sreenan, J. J., Pettay, J. D., Tbakni, A., Totos, G., Sandhaus, L. M., Miller, M. L., Bolwell, B., Tubbs, R. R. (1997): The use of Amplified Variable Number of tandem Repeats (VNTR) in the Detection of Chimerism Following Bone Marrow transplantation. A Comparison With Restriction Fragment Length polymorphism (RFLP) by Southern Blotting. *Am. J. Clin. Pathol.* 107: 292-298.
- Sršeň, Š., Sršňová, K. (1995): *Základy klinickej genetiky*. Martin.Šidlo, J. (1998): Čo sme dlžní našim Rómom, Výber, 4: 38-44.
- Stefány, J. (1997): *Ázsiai kultúrák. Társadalomismeret*. AKG Kiadó Budapest.
- Steffen, C., Aknebauer, W., Bauer-Hoffmann, R., Bye, S., Elyse, D., Frey, B., Keesey, J., Rosenstraus, M., Schäferkordt, S., Schlicht, M. J. (1999): *Roche Molecular Biochemicals PCR Applications Manual*. Mannheim.
- Steinlechner, M., Berger, B., Scheithauer, R., Parson, W. (2001): Population genetics of ten STR loci (AmpF1-STR SGM plus) in Austria. *Int. J. Leg. Med.*, 114:288-290.
- Stoica, A. (1997) In Šišková, T. (1998): *Výchova k toleranci a proti rasizmu*. Sborník. Praha, s. 78-80.
- Suchý, J. (1964): *Untersuchungen an Zigeunerkinder in West- und Nordbohem*. *Arztliche Jugendkunde*, 55: 131-138.
- Suchý, J. (1968a): *Die Zigeuner*, in K. Seller: *Rassengeschichte der Menschheit*, I. Lieferung, München-Wien, 185-221.
- Suchý, J. (1968b): Bodily development of Gypsy children in Czechoslovakia. *Anthropologie*, 6: 73-78.
- Suchý, J. (1972): *Vývoj cikánských dětí v měnících se životních podmínkách*. *Čs. Pediat.*, 27: 430-431.
- Suchý, J. (1978): *Tělesné vlastnosti romských školních dětí*. *Sborník Ped.fak. UK Praha, Biologie*, 5: 13-84.

- Suchý, J., Malá, H. (1969): The physical features of Gypsy youth. *Rivista di Anthropologia*, Roma, 56: 31-43
- Suchý, J., Malá, H. (1973): Tělesný vývoj cikánských dětí v podmínkách ústavní péče. *Čs. defektologie, Somatopedie*, UK Praha.
- Sullivan, J. A. (2000): Differential expression of an estrogen receptor messenger RNA containing exon 1' sequences in MCF-7 breast cancer cell line stocks. *Cancer Lett.* 148(1): 87-93.
- Surány, S. (1997): India gazdasága. Budapest, 1978. In Stefány, J.: Ázsiai kultúrák. Társadalomismeret. AKG Kiadó Budapest.
- Svietnik, P., H. (2002): osobná konzultácia
- Szabo, A., Schürenkamp, M., Hühne, J. (1998) Hungarian population data for six STR loci. *Int. J. Legal Med.* 111:49-51
- Szegő, L. (1983): Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak? Budapest.
- Szőnyi, J.: A cigányok sorsa a fasizmus éveitől alatt In Szegő, L. (1983): Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak? Budapest, 53-57.
- Šídlo, J. (1998): Čo sme dlhší našim Rómom, Výber, 4: 38-44.
- Štampach, F. (1929): Cikáni v Československé republice. Čs. akademie věd a umění. Praha.
- Tagliabracci, A., Presciuttini, S. (1998) Allele frequency of the HUMVWA31 locus in Italy. Report of the GEFI collaborative study "Ancona 1". *Progr. Forensic Genet.* 7: 372-374
- Talmud, P. J., Azoulay, M., Junien, C., Carlson, P., Weil, D., Grzeschik, K. H., Bjursel, G., Williamson, R., Humpries, S. E. (1985): Two DNA polymorphisms of the human apolipoprotein B gene - a useful marker for human chromosome 2. *Cytogenet. Cell. Genet.*, 40: 759.
- The Patrin Web Journal: <http://www.geocities.com/Paris/5121/>
- Thompson, A. M., Crichton, D. N., Elton, R. A., Clay, M. F., Chetty, U., Steel, C. M. (1998): Allelic imbalance at chromosome 17p13.3 (YNZ22) in breast cancer is independent of p53 mutation or p53 overexpression and is associated with poor prognosis at medium-term follow-up. *Br-J-Cancer.* Mar; 77(5): 797-800
- Timeline of Romani History. <http://www.geocities.com/Paris/5121/>
- Tomka, M.: A cigányok története In Szegő, L. (1983): Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak? Budapest, 36-52.
- Turner, R. L. (1926): The position Romani in Indoaryan. *Journal of Gypsy Lore Society* In Beneš, J. (1975): Cikáni v Československu. Antropologická studie dospělých mužů. *Folia Fac., Sci., Nat., Univ. Purkynianae Brunensis*, 16: 1-86.
- Turňa, I., Kettner, M., Antal, M., Augustín, J. (1990): Rekombinantné DNA a biotechnológia. Vydavateľstvo Alfa, Bratislava.
- Turowska, B., Sanak, M. (1995) D1S80 VNTR locus genotypes in population of South Poland; meta-analysis pointer to genetic disequilibrium of human populations. *Forens. Sci. Int.* 75: 207-216
- Turowska, B., Sanak, M. (2000) Frequency data on the loci vWA, FES/FPS, F13A01, TH01, TPOX and CSF1PO in a population from South Poland. *Int. J. Legal Med.* 113: 123-125
- Tuza, T. (1997): Romamécs 2. Az interkulturális oktatás alternatív és kísérleti olvasókönyve. Debrecen
- Vágh, M.: A romológiai kutatások története In: Szegő, L. (1983): Cigányok, honnét jöttek – merre tartanak? Budapest, 25-35.
- Valšík, J. A. (1923): Případ ztlustění papilárních lišten na otisku středníku české Cikánky. *Sborník klubu přírodovědeckého v Praze.*
- Valšík, J. A. (1958): Několik poznatků o rutilismu slovenských cikánů. *Sborník I. sjezdu čl. antropologů* 289-191.
- Valšík, J. A. (1966): O pigmentaci sliznice dutiny ústní našich cikánů. *Spravodaj čs. spol. antropol.*, 19: 24-25.
- Valšík, J. A. (1969) : Les resultas sur l'acculturation des gitans en Tchecoslovaquie. *Acta F. R. N. Univ. Comen., Anthropol.*, 16: 125-132.
- Vanek, D., Hradil, R., Budowle, B. (2001): Czech population data on 10 short tandem repeat loci of SGM Plus STR systém kit using DNA purified in FTA cards, *Forensic Science International* 119 (2001) 1070108
- Van Ooyen, A., van den Berg, J., Mantel, N., Weissman, N. (1979): Comparison of total sequence of a cloned rabbit b-globin gene and its flanking regions with a homologous mouse sequence. *Science*, 206: 337-344.
- Van Tuinen, (1988): *Am. J. Hum. Genet.* 43:578. In Horn G. T., Richards B., Klinger, K. W. (1989): Amplification of a highly polymorphic VNTR segment by the polymerase chain reaction. *Nucl. Acids Res.* 17(5): 2140.
- Vána, R., Pinkas, O. (1938): Biologie cikánů v republice Československé. *Biologické listy*, 23: 184-198.
- Vaux de Foletier, F. (1974): Mil Años de historia de los gitanos. Barcelona.
- Voet, D., Voetová, J. G. (1995): Biochemie. Praha, 1-1325.

- Wojtilla, Gy. (1997): A mesés India. Budapest, 1988. In: Stefány, J.: Ázsiai kultúrák. Társadalomismeret. AKG Kiadó Budapest.
- Woller, J., Budowle, B., Angyal, M., Füredi, S., Pádár, Z. (1998) Population data on the loci HLA-DQA1, LDLR, GYPA, HBG, D7S8, GC and D1S80 in a Hungarian Romany population. *Progr. Forensic Genet.* 7: 381-383
- Woller, J., Füredi, S., Pádár, Z. (1996) Hungarian population data for 11 PCR-based polymorphisms. *Adv. Forens. Haemogenet.* 6: 647-649
- Woller, J., Füredi, S., Pádár, Z. (1997): Polimeráz láncreakción alapuló DNS-vizsgálatok a ma-gyar igazságügyi gyakorlatban (Use of polymerase chain reaction DNA studies in Hungarian legal). *Practice. Orv. Hetil.* 138(51): 3223-8
- Wu, S., Seino, S., Bell, G. J. (1991): Human collagen, type II, alpha 1 (COL2A1) gene: VNTR polymorphism detected by gene amplification. *Nucl. Acids. Res.* 18: 3102.
- Yamakawa, K., Ryoji, M., Takahasi, E., Hori, T., Lathrop, M., Nakamura, Y. (1991): A genetic linkage map of 41 restriction fragment length polymorphism markers for human chromosome 3. *Genomics*, 11: 565-572.
- Yunis, J.J., Garcia, O., Uriarte, I., Yunis, E.J. (2000) Population data on 6 short tandem repeat loci in a sample of Caucasian-Mestizos from Colombia. *Int. J. Legal Med.* 113: 175-178
- Zeman, L. (1968): Vývoj cikánských dětí v kojeneckém ústavu. *Prakt.lék.*, 48: 581-583.
- Zikmund, M., Hanzelka, J. (1971): Világrész a Himalája alatt. Bratislava.

OBSAH

PREDSLOV	2
ÚVOD	3
PREHLAD ROMOLOGICKÝCH ŠTÚDIÍ	5
KTO SÚ RÓMOVIA? (HISTÓRIA RÓMOV)	16
ŠTÚDIUM MATERIÁLU PCR-METÓDOU	61
GENETICKÝ POHĽAD NA PROBLEMATIKU	100
VÝSLEDKY (FREKVENCIE VNTR A STR LOKUSOV)	121
RÓMSKA POPULÁCIA V POROVNANÍ S INÝMI POPULÁCIAMI	139
GENETICKÉ VZDIALENOSTI	198
ZÁVER	208
LITERATÚRA	210
OBSAH	225